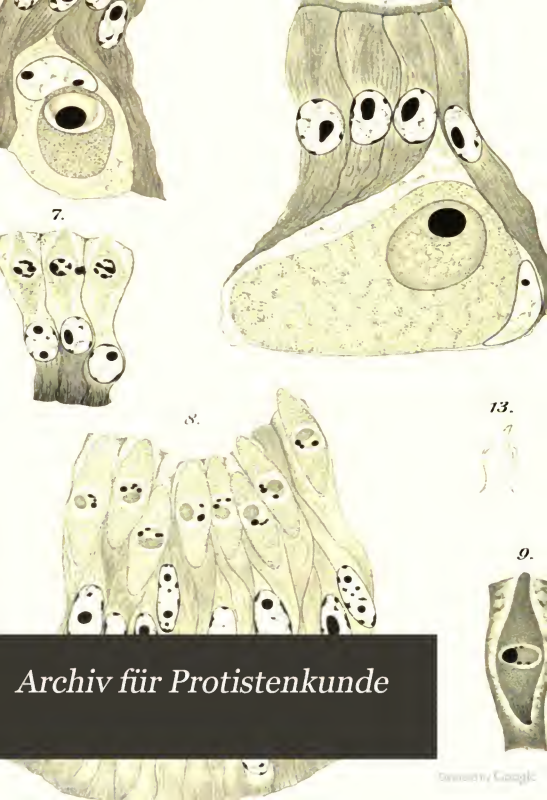


Archiv für Protistenkunde

Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn,

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin. z. Z. Java.

Achter Band.

Mit 17 Tafeln und 128 Textfiguren.

JENA.
Verlag von Gustav Fischer.
1907.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.



Fritz Schaudinn
Rovigno d. 27. X. 1902

Fritz Schaudinn †.

Am 22. Juni ge ... hoffnungen
... Leben Einhalt, ... schaft die
... war, die es ge ... Schön-
... verliehen hatte ...
... burg wurde F ...
... Leiden ...

Fritz ... ngken in
Preußen ... September 1871 ge ... Das Gymnasium
... hte er z... erburg und Gumbin... n, wo er Ostern
... das Matur... examen abgelegt hat. Ur... rünglich hatte
... die Absicht, an der Universität Berlin, ... er hierauf
... ogen hatte, Philologie und zwar speziell ... anistik zu
... dieren. Bald gab er jedoch diesen Plan auf ... widmete
... h mit großem Eifer dem Studium der Natur... schaften,
... besondere der Zoologie. Am 3. März 1894 ...
... ktor promoviert und im Juli desselben Jahres ...
... Reise nach Norwegen an, um in Bergen Studien ... Meeres-
... hizopoden zu machen. Für dieses schöne Land hat er stets
... ne besondere Sympathie behalten. Nach seiner Rückkehr
... wurde er im Oktober 1894 zum Assistenten am Zoologischen
Institut zu Berlin ernannt und habilitierte sich 1898 daselbst
... ch als Privatdozent.

Bereits seine erste Arbeit gibt Zeugnis von der hohen
... bachtungsgabe und dem klaren Urteil des jungen Forschers,
... sich schon frühzeitig mit allen Problemen der Cytologie
... ut gemacht hatte. Sie war *Myxotheca arenilega nov. gen.*
betitelt und erschien in der Zeitschr. f. wissensch. Z...
... 94. Schaudinn beschrieb hier eine neue, von ...
... umgebene Foraminifere mit retikula...



Fritz Schaudinn
Rovigno d. 27.X.1902

Fritz Schaudinn †.

Am 22. Juni gebot der Tod einem jungen, an Hoffnungen reichen Leben Einhalt, dessen einzige große Leidenschaft die Arbeit war, die es geadelt und die ihm unvergleichliche Schönheit verliehen hatte — im Krankenhaus zu Eppendorf bei Hamburg wurde Fritz Schaudinn von seinem tückischen qualvollen Leiden erlöst.

Fritz Richard Schaudinn wurde zu Roeseningken in Ostpreußen am 19. September 1871 geboren. Das Gymnasium besuchte er zu Insterburg und Gumbinnen, wo er Ostern 1890 das Maturitätsexamen abgelegt hat. Ursprünglich hatte er die Absicht, an der Universität Berlin, die er hierauf bezogen hatte, Philologie und zwar speziell Germanistik zu studieren. Bald gab er jedoch diesen Plan auf und widmete sich mit großem Eifer dem Studium der Naturwissenschaften, insbesondere der Zoologie. Am 3. März 1894 wurde er zum Doktor promoviert und im Juli desselben Jahres trat er eine Reise nach Norwegen an, um in Bergen Studien über Meeresrhizopoden zu machen. Für dieses schöne Land hat er stets eine besondere Sympathie behalten. Nach seiner Rückkehr wurde er im Oktober 1894 zum Assistenten am Zoologischen Institut zu Berlin ernannt und habilitierte sich 1898 daselbst auch als Privatdozent.

Bereits seine erste Arbeit gibt Zeugnis von der hohen Beobachtungsgabe und dem klaren Urteil des jungen Forschers, der sich schon frühzeitig mit allen Problemen der Cytologie vertraut gemacht hatte. Sie war *Myxotheca arenilega nov. gen. nov. spec.* betitelt und erschien in der Zeitschr. f. wissensch. Zool. Vol. 57, 1894. Schaudinn beschrieb hier eine neue, von einer allergtigen Schale umgebene Foraminifere mit retikulären

Pseudopodien, die von den heute lebenden Foraminiferenformen wohl die ursprünglichste sein dürfte und vermutlich der Gruppe der Astrorhiziden zum Ausgangspunkt gedient hatte. In derselben Zeitschrift erschien 1895 seine Promotionsarbeit, die „Untersuchungen an Foraminiferen. I. *Calcituba polymorpha*“ (Zeitschr. f. wissensch. Zool., Vol. 59, 1895), wo er eingehend in der ihm höchst charakteristischen Weise die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung dieser noch wenig erforschten Lebewesen schildert und feststellt, daß aus den nackten Plasmodien große sternförmige vielkammerige Individuen entstehen, worauf durch unregelmäßigen Zerfall aus ihnen Bruchstücke von verschiedener Kernzahl sich ausbilden, die entweder weiterwachsen oder sich encystieren.

Weit wichtiger war aber die inzwischen auch im Biolog. Centralbl. Vol. 14, 1894, bereits mitgeteilte Tatsache, daß bei der *Calcituba* sowohl wie bei einer Reihe anderer den verschiedensten Gruppen zugehörigen Foraminiferen durch eine Art Chromidialbildung (ein von R. Hertwig später eingeführter Ausdruck) die Kerne zerfallen, wobei ihre Membran aufgelöst wird und aus den im Plasma zerstreuten Chromatinelementen sich neue Kerne ausbilden. Schaudinn nannte diesen Vorgang multiple Kernvermehrung und konnte in diesen Abhandlungen den von Hofer für *Polystomella* bereits gemutmaßten Kernvermehrungsmodus sicher nachweisen. An diese Arbeit schließt sich eine ganze Reihe von Untersuchungen über Foraminiferen, deren Resultate nur zum Teil kurz in den Berichten der naturforschenden Freunde in Berlin veröffentlicht sind. Gleichzeitig und unabhängig von Lister hatte er dabei den Dimorphismus resp. Generationswechsel dieser Rhizopoden aufgedeckt.

Noch im Jahre 1894 hat Schaudinn in den Sitzungsberichten der Berliner Akademie eine neue Helizoe, *Camptonema nutans*, beschrieben, die er während seines Aufenthaltes in Bergen gefunden hatte. Dieselbe ist ausgezeichnet durch einen eigenartigen, mit den Lokomotionsorganen in Verbindung stehenden Kernapparat, und Schaudinn hat bei dieser Gelegenheit schon Vorstellungen und Vergleiche über den lokomotorischen Apparat der Protozoen und Samenzelle angedeutet, die er 10 Jahre später an Trypanosomen so glänzend hat durchführen können.

In derselben Zeit erschienen auch seine Beobachtungen über die Teilung verschiedener Amöben (*Amoeba crystalligera*

und *binucleata*), die zum erstenmal feinere Kernteilungsvorgänge (Mitose bei A. binucleata) bei diesen einfachsten Protozoen kennen lehrten.

Von besonderer Wichtigkeit war die Klarlegung des Entwicklungskreises von *Paramoeba eilhardi*, einer Amöbe, die mit einem neben dem Kern vorhandenen eigenartigen Nebenkörper ausgestattet ist nnd in mehrere Teilstücke zerfällt, worauf diese Fortpflanzungskörper sich in Flagellaten umwandeln. Bei der Teilung der Flagellaten übernimmt der Nebenkörper die Rolle eines Centrosoms.

In gewisser Weise ähnliche Resultate lieferten auch seine Untersuchnngen über die Forpflanzung und Kernteilung der Heliozoen (Verh. dentsch. zool. Gesellsch. 1896), wobei er gleichzeitig und unabhängig von Lauterborn zu der Vorstellung geführt wnrde, daß das sog. Centralkorn der Heliozoen ein zweiter ans dem eigentlichen Kern hervorgehender Kern sei, der mit dem Centrosom der Metazoenzelle zu vergleichen ist. Diese Feststellung war für die späteren theoretischen Erwägungen Schaudinn's über den Aufbau der Zellen von besonderer Wichtigkeit, denn bereits hier finden wir seine Ansicht über die Zweikernigkeit der Zellen vertreten.

Auch einen primitiven Befruchtungsvorgang, eine Kopnlation und Karyogonie erwachsener Individuen nach vorausgegangener Reduktionskernbildung konnte er für eine Heliozoe, *Actinophrys sol* (Sitznngsber. Akad. Berlin 1896), nachweisen, ein Befund, der hier zum erstenmal für die Rhizopoden festgestellt werden konnte — für die Protozoen überhanpt waren bis dahin nur die Verhältnisse bei den Infusorien und bei *Noctiluca* näher bekannt — und womit er die Reihe seiner glänzenden Untersnchungen über diesen Gegenstand eröffnete.

Bereits im nächsten Jahre lieferte er einen zweiten wichtigen Beitrag znr Kenntnis der Befrnchtungsvorgänge bei den Protozoen, indem er in Gemeinschaft mit Siedlecki (Verh. dentsch. zool. Gesellsch. 1897) bei den Coccidien echte Oogamie nachwies, eine Art des Geschlechtsaktes, die vollkommen mit der Eibefruchtung der Metazoen vergleichbar ist. Dieselbe vorlänfige Mitteilung brachte auch den Beweis für den Generationswechsel der Coccidien.

Kurz znvor hatte er auch eine systematische Arbeit veröffentlicht, die Zusammenstellung und Kennzeichnung der rezenten

Heliozoen, die er für das Tierreich als 1. Probelieferung dieses groß angelegten Werkes geliefert hatte.

Im Mai 1898 trat Schaudinn mit seinem treuen Freunde Dr. Fr. Römer und seinem Onkel, dem Tiermaler Friese, eine Eismeerfahrt auf dem kleinen Fischereidampfer „Helgoland“ an und sammelte ein großes Material, das unter verschiedene namhafte Gelehrte verteilt wurde. Die Ergebnisse dieser Forschungsreise sind in dem Werke Fauna Arctica, das Schaudinn mit Fr. Römer herausgegeben hatte und von dem bis jetzt 4 Bände erschienen sind, niedergelegt.

Nach seiner Rückkehr beschäftigte sich Schaudinn mit großem Eifer mit der Feststellung der sog. Entwicklungskreise der Protozoen, und zwei um diese Zeit erschienene Arbeiten waren von funtamentaler Bedeutung für die ganze Protistologie, ja erst auf Grund dieser Arbeiten konnte das bis jetzt immer wieder vergeblich in Angriff genommene Malariaproblem seiner Lösung von Ross und Grassi zugeführt werden. Es sind das die Untersuchungen über die Entwicklung von *Trichosphaerium* (Anhang Abh. Akad. Wiss. Berlin, 1899) und der Coccidie *Eimeria schubergi* (Zool. Jahrb. Vol. 13 1900), worüber er schon vorher in Gemeinschaft mit Siedlecki teilweise berichtet hatte.

Die Trichosphaeriumarbeit ist vor allem dadurch bemerkenswert, daß sie die erste geschlossene Darstellung eines Generationswechsels zwischen ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Generationen bringt. In der Coccidienmonographie, die besonders auch in methodischer Hinsicht für die Protistenkunde grundlegend ist, erbrachte Schaudinn den exakten Beweis, daß die Entwicklung der Coccidien aus zwei Perioden zusammengesetzt ist. In der ersten wird auf dem Wege eines wiederholten Teilungsvorganges, der Schizogonie genannt wird, die Zahl der Parasiten im Wirtstier erheblich vermehrt. Durch Schädlichkeiten, die in der inneren Natur dieses Vorganges zunächst begründet sind, wird dieser ungeschlechtlichen Vermehrung eine Grenze gesetzt und es kommt zur Differenzierung von Geschlechtsformen, nämlich zu männlichen Mikrogametocyten und zu weiblichen Makrogametocyten, die der Reifung unterliegen, worauf die ausgebildeten Mikrogameten, die nach dem Bauplan der Spermatozoen der höheren Organismen gebaut sind, mit den Makrogameten kopulieren. Nach erfolgter Befruchtung wird um die Kopula eine Hülle abgeschieden. Auf diese Weise wird die sogenannte

Oocyste gebildet, innerhalb deren eine neue, durch die Befruchtung angefachte Vermehrung der Parasiten von statten geht, die als Sporogonie bezeichnet wird. Dieser Vorgang schließt mit der Bildung von Sporozoiten ab, die die Neuinfektion anderer Wirtsindividuen vermitteln.

Es folgte dann eine Mitteilung in den Sitzungsberichten der naturforschenden Freunde in Berlin 1899, worin Schaudinn die durch Ross und Grassi aufgedeckte Entwicklung der Malariaparasiten für das *Proteosoma* bestätigte und dabei auf Grund seiner Coccidienuntersuchungen den genauen Vergleich beider Entwicklungszyklen und somit die richtige Deutung der zum Teil noch nicht ganz aufgeklärten Malariabefunde herbeiführen konnte.

Durch die überraschenden Erfolge der Malariaforschung wurde in der Folgezeit das Interesse der medizinischen Welt für den aufblühenden Zweig der Protistenkunde wachgerufen, und so kam es, daß auf Verlassung des Dr. Hermes, Direktor des Berliner Aquariums, Schaudinn im Auftrage des kaiserl. Gesundheitsamtes im April 1901 nach Rovigno geschickt wurde, um hier die Biologie der pathogenen Protozoen zu erforschen. Der Aufenthalt an den weltgeschichtlichen Gestaden der Adria mit ihrer herben Melancholie und düsteren Ruhe vergangener Kulturen war wohl die schönste und schaffensfreudigste Zeit in dem so kurzen Leben Schaudinn's.

Hier entstanden auch in rascher Aufeinanderfolge die für die Protistenkunde wichtigsten Arbeiten, von denen nur ein Teil veröffentlicht werden sollte. In der ersten Arbeit beschäftigte sich Schaudinn mit der Feststellung des Entwicklungskreises einer im Kern der Darmepithelzellen des Maulwurfs schmarotzenden Coccidie, die dadurch bemerkenswert erscheint, als aus den Sporozoiten zweierlei verschiedene geschlechtlich differenzierte Schizontenformen hervorgehen. In der bald darauf erscheinenden Malariaarbeit war Schaudinn so glücklich, das Eindringen der Sporozoiten und Merozoiten in die roten Blutkörperchen im Leben verfolgen zu können und den Schleier zu lüften, der über der Frage nach dem Ursprung der Rezidive ruhte, indem er den Nachweis erbrachte, daß die Rezidive zurückzuführen sind auf sich in besonderer Weise parthenogenetisch vermehrende Makrogametocyten, die sich unter Verlust eines Plasmateiles und einer entsprechenden Kernmasse (Reduktions-

kernes) sich wieder zu einer der Schizogonie fähigen Form umwandeln.

In dieselbe Zeit fallen auch zwei Studien über den feineren Bau und die Entwicklung von Bakterien, die in diesem Archiv veröffentlicht sind und denen dadurch eine allgemeine Bedeutung zukommt, als Schaudinn bei der Sporenbildung eigenartige Vorgänge aufgefunden hat, die als eine rückgebildete Autogamie zu deuten sind.

Eine weitere Arbeit hatte die Entwicklungsgeschichte verschiedener Rhizopoden, der *Polystomella, Echinopyxis, Clamydophrys* und der im Darm des Menschen schmarotzenden Amöben zum Gegenstand. Es würde zu weit führen, an dieser Stelle den gesamten Inhalt dieser an Beobachtungstatsachen so ungemein reichen Abhandlung wiederzugeben, da allein eine kurze Schilderung der Entwicklungskreise der genannten Formen den hier gesteckten Rahmen überschreiten würde. In praktischer Hinsicht brachte sie die Unterscheidung der harmlosen *Entamoeba coli* von der die gefährliche Amöbendysenterie verursachenden *Entamoeba hystolitica* und zeigte, daß die früher von Schaudinn aus der Ascitesflüssigkeit von Karzinomkranken als *Leydenia gemmipara* beschriebene Amöbe in den Entwicklungskreis der schon länger bekannten *Clamydophrys* gehört, einer harmlosen Form, die für gewöhnlich im Fäces lebt und nur zum Platzen der Cysten den Darm passiert. In theoretischem Sinne vertiefte Schaudinn den von R. Hertwig in die Protistenkunde eingeführten Chromidialbegriff. Er lehrte, daß neben den funktionell tätigen somatischen Chromidien bei den Rhizopoden noch sogenannte generative oder Geschlechtschromidien vorkommen, aus denen die die geschlechtliche Korrektur und Entwicklungserregung besorgenden Geschlechtskerne hervorgehen. Die bei den erwähnten Formen ermittelten Befruchtungsvorgänge, speziell die autogame Doppelbefruchtung der *Entamoeba coli*, waren von der größten Bedeutung für die Erkenntnis des Wesens der Befruchtung überhaupt.

Die nächste Arbeit war einer rein praktischen Frage gewidmet. Nachdem die Entwicklung des Tertianparasiten vollständig aufgeklärt, die des Quartana- und Tropikaparasiten hinreichend weit durchforscht war, hieß es an der Hand eines praktischen Beispieles die Möglichkeit einer prophylaktischen Bekämpfung dieser Volkskrankheit zu beweisen, und zu diesem

Zwecke unternahm SCHAUDINN die Sanierung eines kleinen Dorfes an dem träumerischen fjordartigen Canal di Leme, die vom besten Erfolg gekrönt war.

Die letzte in Rovigno entstandene Arbeit — an Beobachtungstatsachen wie theoretischen Gesichtspunkten wohl die bedeutendste Leistung SCHAUDINN's — war die Feststellung des Generations- und Wirtswechsels von *Halteridium* und *Leukocytozoon*, zweier im Blute von Eulen schmarotzender Protozoen, von denen SCHAUDINN den aufsehenerregenden Nachweis erbringen konnte, daß sie Trypanosomen- und Spirochaetenstadien durchlaufen. Der Entwicklungskreis wird bei diesen Parasiten insofern kompliziert, als indifferente männliche und weibliche Formen stets zugleich vorkommen. Dieselben unterscheiden sich dadurch, daß sich neben Plasmaunterschieden die in diesem Falle in der Zweizahl vorkommenden Kerne — des mit dem Lokomotionsapparat in Verbindung stehenden animalen (Blepharoplast) und des somatisch-propogativen — verschieden und zwar je nach der geschlechtlichen Differenziernng antagonistisch verhalten. Diese letztere Feststellung ist neben der Tatsache von der Zweikernigkeit der Protozoenzelle für die Protistenkunde und die allgemeine Biologie von grundlegender und weittragendster Bedeutung. Die Urform dieser Flagellaten ist morphologisch in dem Sinne einkernig, als der animale Kern (Karyosom) in den vegetativen Kern gleichsam eingeschachtelt ist und erst bei der Entwicklung durch eine heteropole Teilung aus demselben heraustritt. In den männlichen Zellen, wo bei *Halteridium* der vegetative Kern sogar degeneriert, überwiegt der animale Kern (Blepharoblast) mit seinen Funktionen. Bei den eigentlichen Trypanosomen wird das animale Karyosom exzessiv ausgebildet und der vegetative Kern umhüllt es in der Weise, wie das vegetative Chromatin den Kernstab bei *Spirochaete balbiani* vor der Kernteilung. Bei den weiblichen Zellen ist das umgekehrte der Fall. Die Befruchtung ist eine Doppelbefruchtung, indem die homologen Kerne nach beendigter Reifung miteinander verschmelzen, so daß zwei Synkarien entstehen, die nachträglich zu einem einzigen Kopulationskern zusammentreten.

Im Anschluß an diese wichtigen Untersuchungen hat SCHAUDINN in seinem Referat „Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen“ in der 15. Jahresversammlung der

deutschen zoologischen Gesellschaft zu Breslau am 13. Juni 1905 seine theoretischen Vorstellungen zusammengefaßt. Es sei hier zu ihrer näheren Charakterisierung nur der letzte Passus dieser gedankenreichen Abhandlung citiert; S. 33: „Die enorme Differenz der Kerne, nnd damit der ganzen Zellorganisation, die durch die äußeren Lebensbedingungen und durch die in den Organismen selbst gelegenen Unvollkommenheiten während des vegetativen Lebens nach den beiden Extremen der überwiegend vegetativen weiblichen und der vorwiegend animalischen männlichen Formen führt, bewirkt eine Hemmung der Vermehrungsfähigkeit der Zelle; der Organismus würde zngrunde gehen, wenn nicht die Möglichkeit eines Ausgleichs der physiologischen Einseitigkeiten bestünde. Diesen Ausgleich der Extreme, die Schaffung wieder vermehrungsfähiger indifferenter Formen, bei denen die vegetativen und animalen Funktionen sich noch die Wage halten, bewirkt die Befruchtung.

Zum Schluß möchte ich der Überzeugung Ausdruck geben, daß der Dualismns der Zelle, der die Notwendigkeit der Konkurrenz der beiden aneinander unauflöslich gefesselten Gegensätze bietet, ein Bild des Lebensprozesses selbst ist. Ist dieser Dualismns gestört, so hört das Leben auf. Ich halte das Bestehen dieses Dualismus, mag er nun als Dimorphismus der Kerne oder der Gesamtorganisation unserem Auge erkennbar werden oder nur physiologisch sich bemerkbar machen, für ein Postulat bei allem Lebenden. Da aber derselbe Dualismus, der das Wesen der Lebensmaschine ausmacht, gerade durch die Differenzierungsmöglichkeit, oder sagen wir Siegesmöglichkeit einer seiner beiden Einheiten den Keim des Unterganges in sich trägt, so halte ich auch die Ausgleichsmöglichkeit, d. h. die Befruchtung für einen allen Lebewesen zukommenden Vorgang.

Mit der Annahme des primären physiologischen Dualismus der organischen Substanz haben wir ohne weiteres die Vorstellungen des Geschlechtsdimorphismus und der Befruchtung gewonnen.“

Es ist von Interesse, daß der Biologe Schaudinn hier ähnliche Gedankenpfade wandelt wie die Geschlechtsphilosophen der letzten Tage (Weininger, Fliess).

Im Jahre 1904 wurde Schaudinn an das kaiserl. Gesundheitsamt nach Berlin bernfen nnd wurde hier Leiter der neugegründeten Abteilnng für Protistenkunde. Hier beschäftigte er sich znnächst

mit der Untersuchung der Wurmkrankheit und den Maßnahmen, die im deutschen Bergwerksrevier zu ihrer Bekämpfung zu ergreifen waren. Im Frühjahr 1905 fand er gelegentlich der Nachprüfung der Befunde von Siegel im engsten Anschluß an die Erfahrungen der Klinik den schon so oftmals vergeblich gesuchten Erreger der Syphilis, die *Spirochaeta pallida* — gleichsam ein praktischer Abschluß seiner früheren rein wissenschaftlichen Spirochaetenstudien. Ein eigenes Geschick waltete über dieser für die Menschheit so überaus wichtigen Entdeckung. Trotzdem bald von allen Seiten Bestätigungen kamen, wurde der Befund von einem Teil seiner Berufsgenossen nicht anerkannt und trug ihm statt der verdienten Anerkennung allerhand Anfeindungen ein. In den maßgebenden medizinischen Kreisen wird allerdings heute die ätiologische Bedeutung seines Fundes allgemein anerkannt. Schaudinn's einfacher, gerader, wahrheitsliebender Charakter geizte aber nicht nach lärmenden Anerkennungen, ihn befriedigte vollauf die Überzeugung, den Erreger der Syphilis tatsächlich gefunden und durch diesen Fund seine Trypanosomen-Spirochaetenstudien gleichsam einen Schritt vorwärts gebracht zu haben.

In seinem letzten Lebensjahre folgte Schaudinn einem Rufe als Leiter der von ihm zu begründenden Protozoenabteilung an das Institut für Schiffs- und Tropenhygiene nach Hamburg, wo er endlich die ihm zusagende Stellung gefunden hatte, von der er und seine Freunde viele Früchte erhofften.

Über eine Schöpfung Schaudinn's, die Gründung des „Archiv für Protistenkunde“, bedarf es an diesem Orte nicht weitgehender Würdigung und Besprechung. Schaudinn schwebte mit der Herausgabe dieses Archivs die Schaffung eines allgemeinen Publikationsorganes für die Protistenkunde vor, das vor allem auch dazu dienen sollte, die verloren gegangene Verbindung und den befruchtenden Ideenaustausch zwischen den zoologischen, botanischen und medizinischen Forschern auf dem Gebiete der Protistenforschung wieder herzustellen. Es sei dies für uns ein teures Vermächtnis.

Aus dem hier versuchten Überblick über die in der kurzen Zeit von 12 Jahren geleisteten Lebensarbeit Schaudinn's geht klar hervor, daß derselbe nicht nur ein hervorragender, neue Pfade findender Forscher, sondern auch ein ebenso hervorragender naturwissenschaftlicher Denker gewesen ist, der die

theoretische Wichtigkeit seiner Befunde mit klarem Blick erkannt und verwertet hat. Die bei Fachgenossen vielfach verbreitete Anschauung, daß in theoretischer Beziehung SCHAUDINN weniger geleistet habe resp. hervorgetreten sei, trifft nicht zu und kommt nur daher, daß er bei der Fülle der ihm durch seine enorme Schaffenstätigkeit zuströmenden neuen Beobachtungstatsachen sich meist damit begnügte, in einigen kurzen Sätzen oft in mehr angedeuteter Weise seine theoretischen Folgerungen zu ziehen und seine neuen Ideen auszusprechen. Selbst in dem oben teilweise citierten, theoretischen Betrachtungen gewidmeten Vortrage ist die Fülle seiner neuen Ideen nur in wenige kurze Sätze zusammengedrängt. Man kann sicher sein, daß SCHAUDINN in Zukunft, wenn sein leidenschaftlicher Arbeitstrieb in ruhigeren Bahnen sich bewegt hätte, auch in theoretischer Beziehung noch Großes geleistet hätte.

SCHAUDINN's kurzes aber inhaltsreiches Leben schuf sich durch die sowohl in praktischer wie theoretischer Hinsicht bedeutsamen Arbeiten ein monumentum aere perennius.

Was aber der offene wahrheitsliebende Mann voll überschäumender Lebenslust und Arbeitsfreude seinen Freunden war, das können diese nur fühlen und jedes tastende Wort ist ein Sakrileg an dem stillen Tempel in ihrem Herzen.

M. Hartmann u. S. v. Prowazek.

(Aus dem Zoologischen Institut Heidelberg.)

Beiträge zur Kenntnis von *Stentor coeruleus* Ehrbg. und *St. roeselii* Ehrbg.

Von
Dr. **Olaw Schröder.**

(Hierzu Tafel I.)

Material und Methoden.

Das Material zu den vorliegenden Untersuchungen konnte stets in beliebig großer Menge beschafft werden, da sich sowohl *Stentor coeruleus* als auch *St. roeselii* in den Aquarien und Kulturgläsern des Zoologischen Instituts während des ganzen Sommers in großer Anzahl entwickelte.

Zur Konservierung verwandte ich mit gutem Erfolge Hermann's und Flemming's Gemische, sowie 1 proz. Osmiumsäure. Die beiden erstgenannten Konservierungsflüssigkeiten hatten indessen den Vorzug, daß die Plasmastruktnren besser erhalten blieben. Als wenig geeignet erwies sich dagegen die von Nereshеimer (03) angegebene Mischung: 20 ccm Formol 8 Proz., 20 ccm Kal. bichrom. 2 Proz., 1 ccm Eisessig zu der vor dem Gebrauch ein Tropfen Osmiumsänre 1 proz. hinzugesetzt wird. Das Plasma der mit diesem Gemisch fixierten Stentoren war in Klumpen zusammengeballt, die äußere Körperschicht schlecht erhalten, so daß die Beziehungen der Myoneme zu den Zwischenstreifen und das Vorhandensein eines Myonemkanals kaum zu erkennen waren.

Das konservierte Material wurde teils auf Schnittserien von 3—5 μ Dicke untersucht, teils zur Herstellung von Klopfpräparaten

verwandt. Stets wurden die gefundenen Resultate an lebendem Material nachgeprüft.

Zur Schnittfärbung verwandte ich Hämatoxylin-chromsaures Kalium, teilweise mit Nachfärbung durch Eosin, Delafield's Hämatoxylin und die von Mallory angegebene Dreifachfärbung in den von mir an anderer Stelle (06) angeführten Mischungsverhältnissen. Diese letzte Methode ergibt eine recht differente Färbung der verschiedenen Zellorgane und daher sehr übersichtliche Bilder. Dagegen färben sich die gleichen Zellbestandteile, selbst wenn die gleiche Fixierungsmethode angewandt worden war, nicht immer in derselben Weise. So wurden die Myoneme z. B. grau, orange, rot oder violett gefärbt, und das Plasma orange oder grauviolett bis grau. Nicht geeignet ist diese Methode für Totalfärbungen, da die einzelnen Farbstoffe ungleichmäßig eindringen.

Der Zweck dieser Arbeit war in erster Linie, die Myonemsysteme der Gattung *Stentor* einer erneuten Untersuchung zu unterziehen. Anhangsweise werde ich auch auf den Bau der Membranellenzone eingehen, der bisher in keiner Arbeit ganz richtig dargestellt wurde.

Da in fast allen neueren Abhandlungen, z. B. bei Bütschli (87—89), Schuberg (91) und Johnson (93), die ältere Literatur über die Myonemfrage bei *Stentor* berücksichtigt wurde, so darf ich sie an dieser Stelle wohl übergehen.

Die erste genauere Untersuchung des Baues der Körpermyoneme von *Stentor* verdanken wir Bütschli und Schewiakoff (Bütschli 87—89 p. 1297). Sie unterscheiden bei *Stentor coeruleus* die Pigmentkörner führenden Rippenstreifen und pigmentfreie Zwischenstreifen. Die Rippenstreifen ließen die Struktur der Alveolarschicht erkennen, die den Zwischenstreifen fehlen soll. Unter letzteren, und zwar direkt unter der Pellicula, soll je ein Myonemkanal hinziehen, in welchem an der der Cilienreihe benachbarten, also rechten Seite ein Längsmyonem verläuft. Die Myonemkanäle springen häufig gegen das Corticalplasma konvex vor. Der Querschnitt der Myoneme sei oval.

Sonderbarerweise wurden diese Befunde Bütschli's und Schewiakoff's von neueren Autoren nicht bestätigt. Hierauf werde ich nach Darstellung meiner eigenen Resultate noch näher eingehen.

Zunächst werde ich mich zur Besprechung des Myonemsystems der Seitenfläche und werde erst später das des Stirnfeldes kurz

nachholen. Bekanntlich wird die gesamte Körperoberfläche der *Stentoren* von abwechselnd körnigen dunkleren und körnerfreien hellen Streifen gebildet. Die ersteren wurden, wie oben bemerkt, von Bütschli Rippenstreifen, die letzteren Zwischenstreifen genannt. An der rechten Seite der Zwischenstreifen befinden sich die Cilienreihen. In den Rippenstreifen liegen die pigmentierten (*St. coeruleus*) oder pigmentfreien (*St. roeselii*) Körner, welche diese Streifen dunkler erscheinen lassen. Unter jedem Zwischenstreifen verläuft ein Myonem, wie man schon am lebenden Infusor sehen kann. Die Zwischenstreifen lassen sich vom Fußende bis nahe an die Membranellenzone ununterbrochen verfolgen. Abgesehen von der Verästelungszone (Schuberg) finden sich Gabelungen oder Verzweigungen der Zwischenstreifen nur selten. In der Verästelungszone verzweigen sich die Myoneme in gleicher Weise wie die Zwischenstreifen, so daß auch dort unter jedem Zwischenstreif eine Myonemfibrille liegt. Bei Betrachtung der Körperoberfläche überzeugt man sich ebenfalls leicht davon, daß das Myonem nicht unter der Mitte des Zwischenstreifens verläuft, sondern näher an der zugehörigen Cilienreihe, wie es von Bütschli und Schewiakoff bereits beschrieben wurde. Diese seitliche Lagerung der Myoneme kann man auch auf günstigen Flächenschnitten (Fig. 6 u. 7) erkennen.

An lebenden Stentoren sieht man schon bei der Flächenansicht, viel deutlicher aber bei Untersuchung des optischen Querschnittes der Körperoberfläche (Fig. 5), daß die Myoneme in einem hellen Kanal verlaufen. Selbstverständlich muß das Infusor günstig liegen, doch wird es bei einiger Übung leicht gelingen, die lebenden Stentoren in die geeignete Lage zu bringen. Das Vorhandensein des Myonemkanals erkennt man mit größter Deutlichkeit auch auf Querschnitten (Fig. 1—4). Fig. 1 stellt einen Querschnitt durch die mittlere Körperregion von *Stentor coeruleus* dar. Die Rippenstreifen (*r*) sind mit zahlreichen blaugrünen Pigmentkörnern erfüllt, die Zwischenstreifen (*z*) sind hier gelb gefärbt. An ihrem rechten Rand befinden sich die Cilien (*c*). Unter den Zwischenstreifen (*z*) liegen, vom Corticalplasma umgeben, die etwa ovalen Querschnitte der Myonemkanäle (*mk*), welche von den Zwischenstreifen (*z*) nach außen abgeschlossen werden. In der der Cilienreihe benachbarten Region jedes Kanals sieht man den ovalen oder eher birnförmigen Querschnitt des Längsmyonems (*lm*), dessen verschmälerte Außenkante sich an den Zwischenstreifen anheftet. Ein ähnliches Bild geben alle Querschnitte vom aboralen Pol bis dicht unterhalb des Peristomfeldes.

Hieraus ist ersichtlich, daß die Myoneme ziemlich hohe Bänder

sein müssen, was wir auf Längsschnitten auch bestätigt finden (Fig. 8, 10 u. 12 *lm*). Die Höhe der Myonembänder ist je nach dem Grade der Kontraktion verschieden. Bei Fig. 1—3 betrug sie 3—4 μ, bei Fig. 4 sogar 6—7 μ. Dabei ist allerdings nicht zu vergessen, daß die fixierten Exemplare meist stark, oft beinahe zu einer Kugel kontrahiert sind. Bei lebenden, ausgestreckten Exemplaren ist das Myonemband daher viel schmäler, wie auch aus Fig. 5 ersichtlich ist. Die Dicke der Myonembänder beträgt nur etwa 1 μ. Stets ist die äußere Kante der Myoneme, die sich an den Zwischenstreifen anheftet, schmal, die nach innen gerichtete freie Kante meist dick (Fig. 1, 3—5). Selten dagegen zeigen die Myoneme eine gleichmäßige Dicke, wie es Fig. 2 darstellt.

Wie schon oben erwähnt wurde, kann man die Zwischenstreifen und die darunter liegenden Myoneme vom Fußende bis dicht an die Membranellenzone des Stirnfeldes verfolgen. Auf günstigen Längsschnitten ist indessen leicht zu erkennen, daß die Myoneme am Fußende nicht gleichzeitig mit den Zwischenstreifen enden (Fig. 10), sondern sich nach innen und etwas nach vorn umbiegen, indem sie, sich etwas verjüngend, zusammen eine Art Kegel über der Fußplatte (*fp*) bilden. Ein Verschmelzen der Myonemenden oder eine engere Verbindung derselben miteinander konnte ich jedoch an dieser Stelle nicht feststellen.

Von dem Gipfel dieses Kegels aus können wir also die Myonembänder unter dem ganzen Verlauf der Zwischenstreifen in konstanter Höhe oder nach vorn etwas schmäler werdend (Fig. 8 *lm*) verfolgen. Kurz vor dem Rand des Stirnfeldes hören jedoch die Zwischenstreifen auf, ohne diesen also zu erreichen. Bei flüchtiger Betrachtung erhält man leicht den Eindruck, daß auch die Myoneme an dieser Stelle enden. Auf guten Schnitten kann man aber stets erkennen, daß eine allerdings sehr feine Fortsetzung der Myoneme vorhanden ist. Diese lassen sich bis zur adoralen Zone verfolgen und ziehen gegen die Basalsäume der Membranellen (Fig. 8 *bs*). Ob und in welcher Art sich hier die Myoneme mit den Basalsäumen verbinden, konnte ich nicht feststellen. Bemerkenswert ist es indessen, daß diese feine Fortsetzung der Myoneme tiefer im Innern des Plasmas verläuft, also nicht wie der Hauptteil der Myoneme an der Körperwand befestigt ist.

Über die feinere Struktur der Myoneme kann ich folgendes mitteilen. Von der Ansicht auf die flache Seite (Fig. 8 u. 10) zeigen die Myonembänder (*lm*) häufig keine feinere Struktur, abgesehen davon, daß ihre tiefere Region wegen der nach innen zunehmenden

Dicke dunkler gefärbt erscheint. In manchen Fällen erscheinen sie indessen auch in dieser Ansicht aus abwechselnden hellen und dunklen Abschnitten zusammengesetzt (Fig. 12). Diese Erscheinung beobachtet man häufiger und besser auf oberflächlichen Schnitten durch den Körper, auf denen die Myonembänder von der Schmalseite gesehen werden (Fig. 11). In diesem Falle ist die Erscheinung natürlich deshalb deutlicher, weil das Myonemband in dieser Ansicht eine weit größere Tiefe im Präparat besitzt, als wenn es flach liegt, wie auf Fig. 12; die dunklen Abschnitte werden daher viel dunkler erscheinen als in der ersterwähnten Ansicht. Auf Fig. 11 sehen wir, daß die dunklen Abschnitte zugleich Schwellungen der Myonemsubstanz bilden. Diese Anschwellungen sind wohl zweifellos als Anzeichen der Kontraktion der Myoneme aufzufassen. Ähnliche Bilder der Myoneme kann man auch an lebenden Stentoren unter günstigen Verhältnissen beobachten, deren Myoneme dann quergestreift erscheinen, was von Bütschli und Schewiakoff entdeckt wurde. Hieraus folgt also sicher, daß die auf Präparaten feststellbare Querstreifung der Myoneme kein sog. Kunstprodukt ist.

Die Kanäle der Längsmyoneme besitzen einen etwa ovalen bis kreisförmigen Querschnitt (Fig. 1—5 *mk*), dessen Gestalt natürlich auch von den Körperkontraktionen beeinflußt wird. Ich konnte das Vorhandensein der Kanäle unter dem ganzen Verlauf der Zwischenstreifen feststellen; dagegen waren sie nicht mehr deutlich dort nachweisbar, wo die Myoneme (wie oben geschildert) am Hinterende ins Innere einbiegen und zu einer Art Kegel zusammentreten (Fig. 10). Auch in der vorderen Körperregion konnte ich die Kanäle nur soweit sicher verfolgen, als die Zwischenstreifen reichten und die Myoneme noch bandförmig sind (Fig. 8). Ich vermute indessen, daß auch die vordere fadenartige Verlängerung jedes Myonems wie die Myoneme der Vorticellen (siehe meine Abhandlungen im Arch. f. Protistenk. Bd. VII Heft 1—3) in einem kanalartigen Raum verläuft, wie ich es auf Fig. 8 angedeutet habe. Die Kanäle verlaufen in ihrer ganzen Ausdehnung wahrscheinlich im Corticalplasma. Dies genau festzustellen ist deshalb nicht leicht, weil das Corticalplasma ganz allmählich in das Entoplasma übergeht und eine scharfe Grenze beider nirgends zu finden ist. Wie schon erwähnt, wird die Außenwand der Myonemkanäle von den Zwischenstreifen gebildet.

Die Zwischenstreifen sind unzweifelhaft dem Alveolarsaum zuzurechnen. Auf einigen Präparaten (Fig. 1, 2 u. 4 *z*) konnte ich in den Zwischenstreifen die charakteristische, einschichtige, radiäre Wabenstruktur des Alveolarsaumes mit Deutlichkeit erkennen. Wir

haben uns daher in den Zwischenstreifen längsgerichtete Bänder der Alveolarschicht zu denken, die in besonderer Weise differenziert sind und sich vermutlich durch bedeutendere Festigkeit auszeichnen. Auf diese Weise gewähren sie den an sie festgehefteten Myonemen einen besseren Halt. Wahrscheinlich wirken sie auch durch ihre Elastizität bei der Wiederausdehnung des Körpers mit; denn daß die Zwischenstreifen trotzdem noch sehr elastisch sind, geht schon aus der starken Kontraktionsfähigkeit des Stentorkörpers hervor. Auch kann man beobachten, daß die Breite und Dicke der Zwischenstreifen je nach der Stärke der Kontraktion wechselt, d. h. also bei größerer Kontraktion bedeutender als bei schwächerer Kontraktion oder ausgedehnten Exemplaren ist. Die substanzielle Beschaffenheit der Zwischenstreifen ist sicher von der der Rippenstreifen wesentlich verschieden, wie aus ihrer immer ganz eigenartigen Färbung hervorgeht; häufig färben sie sich ebenso wie die Myoneme (Fig. 3, 8, 10 u. 12), häufig aber auch abweichend (Fig. 1, 2 u. 4). Daß die Zwischenstreifen fester sind als die Rippenstreifen, folgt sicher daraus, daß letztere sowohl an lebenden Stentoren wie bei konservierten Exemplaren stets zwischen den Zwischenstreifen gewölbt hervorquellen (Fig. 1—5 u. 8 oben). Diese Hervorbuchtung der Rippenstreifen nimmt mit der Kontraktion zu.

Auch die Rippenstreifen lassen eine Alveolarschicht erkennen, wie ich an einigen Präparaten von *Stentor roeselii* sicher wahrnehmen konnte (Fig. 4 *r*). Auf dem in Fig. 4 wiedergegebenen Präparat besaß die Alveolarschicht sogar in ihrer gesamten Ausdehnung eine vom Corticalplasma abweichende Färbung. Bei *Stentor coeruleus* dagegen wird die Alveolarschicht der Rippenstreifen durch die Pigmentkörner verdeckt oder jedenfalls undeutlich gemacht.

Ich brauche an dieser Stelle nur noch auf die scheinbare feine Querstreifung der Zwischenstreifen einzugehen. Schon Bütschli (87—89 p. 1298) vermutete, daß dieselbe auf den Rippenstreifen auch vorhanden sei, aber durch die darunter liegenden Pigmentkörner undeutlich würde. Dies ist nun tatsächlich der Fall, denn bei *Stentor roeselii* kann man sich leicht davon überzeugen, daß die Querstreifung sich auch auf die Rippenstreifen erstreckt (Fig. 7 *r*). Der Grund dieser anscheinenden Querstreifung ist eine feine unregelmäßige Querringelung oder Querfältelung der Pellicula. Auch die Anordnung der Pigmentkörner in Querreihen, die man bei *Stentor coeruleus* häufig beobachten kann (Fig. 6), glaube ich auf diese Querfältelung zurückführen zu dürfen.

Es bleibt noch übrig, des am aboralen Körperpol gelegenen

„Fußes" von *Stentor* zu gedenken. Derselbe stellt eine etwa kreisförmige Körperstelle am Hinterende dar, bis zu der sich die Zwischen- und Rippenstreifen verfolgen lassen. Das Aussehen des Fußes ist, je nachdem das Exemplar schwimmt oder festgeheftet ist, ein sehr wechselndes, worauf schon JOHNSON (93) hingewiesen hat. Die Festheftung geschieht meist vermittels pseudopodienartiger Fortsätze, die lobos oder cilienähnlich (Fig. 10 *cf*) sein können. Diese Fortsätze entspringen von einer ziemlich grobwabigen Plasmamasse (Fig. 10 *fp*), die sich unterhalb des von den Myonemen gebildeten Kegels befindet. Auf Schnitten, die nach MALLORY's Angaben gefärbt sind, hat diese Stelle eine vom übrigen Plasma differente Färbung, ähnlich derjenigen der Myoneme und Zwischenstreifen.

Nur kurz brauche ich auf die Myonemsysteme des Stirnfeldes einzugehen. Wir finden dort ganz analoge Verhältnisse wie auf der übrigen Körperfläche, nur sind alle Teile kleiner und weniger deutlich (Fig. 8). Auch dort befinden sich unter allen hellen Streifen, die also den Zwischenstreifen entsprechen, die Myoneme in Kanälen, und an der konvexen Außenseite der bogenförmig verlaufenden Zwischenstreifen stehen die Cilienreihen. Auch in dem an der Innenseite der Membranellenzone hinziehenden, bei *St. coeruleus* pigmentierten „Randstreif" (Fig. 8 *rst*) verläuft ein heller Zwischenstreifen (*zrst*). Unter diesem befindet sich ebenfalls ein Myonem, sowie eine Cilienreihe an seiner Seite.

Wenn wir die eben mitgeteilten Ergebnisse mit den Beobachtungen von BÜTSCHLI und SCHEWIAKOFF vergleichen, so ergibt sich, daß sie in den Hauptpunkten übereinstimmen. Die von mir angewandte Schnittechnik erlaubte es indessen, manche Verhältnisse noch genauer zu erkennen. So wird z. B. die Alveolarschicht nicht in den Zwischenstreifen durch die Myonemkanäle unterbrochen, sondern die Zwischenstreifen sind besonders differenzierte Abschnitte derselben, und die Myonemkanäle verlaufen unter ihnen im Corticalplasma.

Die Struktur der Myoneme wurde von BÜTSCHLI (87—89 p. 1300) darauf zurückgeführt, daß er die Myoneme als Plasmafäden deutete, die aus e i n e r Wabenreihe gebildet werden. Derartig gebaute Myoneme habe ich bei meinen Untersuchungen an Vorticellen öfter nachgewiesen (vgl. diese Zeitschrift Bd. VII Heft 1, 2 u. 3). Wie oben schon näher ausgeführt, glaube ich die Myonemstruktur bei *Stentor* indessen als Kontraktionserscheinung deuten zu müssen.

In neuerer Zeit haben sich JOHNSON (93), MAIER (02) und NERESHEIMER (03) mit Untersuchung von *Stentor* beschäftigt und namentlich

auch über die Myoneme berichtet. JOHNSON (93) gelang es nicht, die von BÜTSCHLI dargestellte Alveolarschicht wiederzufinden. Er schreibt darüber (p. 479): „If such a layer exists in *Stentor*, as seems probable, it is extremely thin, and its structure so obscure as to escape detection. In *S. caeruleus* the structure of the ectoplasm is further masked by the abundant pigment, which it is impossible to remove. Notwithstanding these observational difficulties (BÜTSCHLI (89, p. 1298 Fig. 14d), has figured an alveolar structure for the ectoplasm of *S. caeruleus*; but after repeated efforts, I am still unable to make it out." Ferner beschreibt JOHNSON den Querschnitt der Myoneme als kreisförmig und konnte die Querstreifung derselben nicht feststellen, die er daher für ein Kunstprodukt zu halten geneigt ist (p. 483): „BÜTSCHLI (89, p. 1298) describes the myonemes of *S. caeruleus* as being oval in transverse optical section; to me however, the section has always appeared to have a circular outline (fig. 5). Neither have I been able to make out the transverse striations figured by BÜTSCHLI, even with the 2 mm apochromatic homogenous immersion of ZEISS. While I do not assert the absence of the striae, owing to my inability to see them, I would nevertheless suggest that the appearance observed by BÜTSCHLI was of artificial origin." Auch den Myonemkanal fand JOHNSON nicht wieder (p. 485): „BÜTSCHLI (89, p. 1298) has represented the Myoneme of *S. caeruleus* as lodged in a „canal", lying in the „alveolarschicht" beneath the clear stripe. Although I have searched for it repeatedly, I have been unable to find the least evidence of such a structure, either in optical or actual sections."

Ebenso wie JOHNSON hat auch MAIER (02) „trotz eifrigen Bemühens weder im Leben noch auf Schnittpräparaten eine Andeutung der von BÜTSCHLI beschriebenen und abgebildeten Alveolarschicht nachweisen" können. Ebensowenig fand er den Myonemkanal wieder. Den Querschnitt der Myoneme findet er kreisrund. Wenn MAIER angibt (p. 106), daß die Basalkörperchen der Cilien tiefer als die ziemlich oberflächlich verlaufenden Myoneme liegen, so beruht das sicher auf einer Verwechslung der Zwischenstreifen mit den Myonemen, da letztere, wie wir gesehen haben, ziemlich tief ins Corticalplasma hineinragen. Auf seiner Fig. 10b hat MAIER auch die Myoneme abgebildet, aber nicht als solche erkannt. Was von ihm mit „M" bezeichnet ist, sind jedenfalls die Querschnitte der Zwischenstreifen des Peristomfeldes, die tiefer liegende dunkle Linie ist aber wohl dadurch zustande gekommen, daß die Myoneme des Peristomfeldes nicht ganz quer getroffen sind und die Abschnitte der einzelnen

Myoneme zusammen eine fortlaufende Linie vortäuschen. Maier selbst gibt für diese Linie auf seiner Abbildung weder eine Beschreibung noch erwähnt er sie im Text. Auch an der unterhalb der Membranelle gezeichneten Körperpartie hat Maier unter den Basalkörperchen eine dunkle Linie eingetragen, die nichts anderes ist als ein Längsmyonem, das nicht in seiner ganzen Breite und im Zusammenhang mit dem zugehörigen Zwischenstreifen getroffen ist.

Die neuesten Untersuchungen über die Myoneme von *Stentor* stammen von Neresheimer (03). Er glaubt festgestellt zu haben, daß die Myoneme im basalen Körperabschnitt an ihrer Außenseite von Fibrillen begleitet würden. Bei der von ihm angewandten Tinktion (nach Mallory) färbten sich die Myoneme deutlich rot, die angeblichen, mehr peripher gelegenen Fibrillen dunkelviolett, während die Zwischenstreifen ungefärbt blieben. Diese „Fibrillen“ sollen nach Neresheimer nervöse Organellen sein, weshalb er sie Neurophane nennt. Er schreibt (p. 308) darüber: „An dünnen Schnittserien fand ich die elliptischen Querschnitte der Myophane in ziemlich gleichen Abständen nahe der Peripherie gelagert, den längsten Durchmesser der Ellipse nach dem Centrum des Tieres gerichtet. Die gleichfalls elliptischen Querschnitte der Neurophane, mit ihrem längsten Durchmesser senkrecht zu dem der Myophane gestellt, lagern etwas peripher von den letzteren.“

Ein Vergleich der Querschnitte, die er in Fig. 7 u. 8 dargestellt hat, mit meinen Abbildungen 1—5 ergibt sofort, daß Neresheimer die Zwischenstreifen für besondere Fibrillen gehalten hat. Dies wird ferner dadurch bestätigt, daß er von den Zwischenstreifen angibt, sie färbten sich nicht mit der Mallory'schen Methode, während wir fanden, daß sie sehr intensiv gefärbt werden. Von dem Bau der Körperwand hat Neresheimer überhaupt nichts gezeichnet, selbst die Rippenstreifen mit ihren Pigmentkörnern sind nicht angedeutet. Wenn seine Fig. 7 u. 8 wahrheitsgetreue Abbildungen von Schnitten sind, so war die Konservierung der Tiere jedenfalls sehr mangelhaft. Die von Neresheimer gebrauchte Konservierungsflüssigkeit (20 ccm Formol 8 Proz., 20 ccm Kal. bichrom. 2 Proz., 1 ccm Eisessig, wozu vor Gebrauch ein Tropfen Osmiumsäure 1 Proz. hinzugesetzt wurde) habe auch ich versuchsweise angewandt. Wenn meine damit erzielten Resultate auch anscheinend besser waren, als die von Neresheimer, so waren sie doch bei weitem nicht zufriedenstellend, wie ich schon oben ausgeführt habe. Daß auch die anderen von Neresheimer gebrauchten Methoden nicht einwandsfrei sind, ergibt sich aus der folgenden Bemerkung der Neresheimer'schen Arbeit (p. 307):

„Um möglichst große Stücke des losgelösten Ektoplasmas zu erhalten, empfiehlt es sich, die lebenden Stentoren in schwach mit Methylenblau gefärbtes Wasser zu bringen und den Zeitpunkt abzupassen, in dem das Tier das ganze Ektoplasma abwirft und abstirbt. Die abgeworfenen Ektoplasmastücke, die sich bald auflösen, fixiert man sofort und färbt sie nach der angegebenen Methode. Die Methylenblaufärbung selbst ergibt keine Resultate, da sich immer nur die Rippenstreifen stark blau färben. Bei all diesen gewaltsamen Methoden ergeben sich natürlich leicht Verzerrungen und Verlagerungen der Elemente, so daß es schwer ist, den normalen Verlauf der Fibrillen genau zu verfolgen. Insbesondere werden die von mir neu aufgefundenen Fasern, für die ich nach Analogie des Häckelschen Ausdrucks „Myophane" die Bezeichnung „Neurophane" vorschlagen möchte, leicht in die unteren Schichten des Ektoplasmas hineingezerrt. Die beste Übersicht geben Präparate, auf denen diese Verlagerung nur schwach eingetreten ist, so daß die Neurophane, anstatt normalerweise direkt über den Myophanen hinzuziehen, direkt neben ihnen herlaufen."

Diese eigenartige Konservierungsmethode, bei der im besten Falle die Zwischenstreifen neben die Myoneme gezerrt werden, anstatt peripher von ihnen zu liegen, dürfte doch für genauere Untersuchungen wenig geeignet sein. Durch solche Lageverschiebungen irregeführt, scheint dann Neresheimer auch die Zwischenstreifen („Neurophane") und die Myoneme (Myophane) häufig miteinander verwechselt zu haben. Er schreibt (p. 310): „Auch in ihrem Verhalten gegen Reagentien unterscheiden sich die Neurophane von den Muskelfibrillen durch ihre starke Neigung zum Verquellen. An schlecht konservierten Präparaten kann diese Verquellung soweit gehen, daß die Fibrillen streckenweise das rosenkranzartige Aussehen der Kerne von *Stentor coeruleus* imitieren." Eine derartige Verquellung ist nun nach meinen Befunden stets bei schlechter Konservierung an den Myonemen zu konstatieren, nicht aber an den Zwischenstreifen („Neurophanen" Neresheimer's), die viel resistenter zu sein scheinen. Neresheimer bemerkt weiter: „Aber auch bei den bestkonservierten Exemplaren zeigen sie (die Neurophane) ein variköses Aussehen, das stark an die Nervenfibrillen von *Hydra* erinnert." Auch hier sind höchstwahrscheinlich die Myoneme gemeint, da die Zwischenstreifen nichts von solchen Erscheinungen aufweisen, wohl aber die Myoneme manchmal derartige Varikositäten zeigen können, die ich bei bester Konservierung jedoch nicht fand. Einen weiteren Beweis, daß Neresheimer vielfach die Zwischenstreifen („Neurophane") mit den

Myonemen verwechselt hat, erblicke ich darin, daß er die „Neurophane“ niemals weit über den Äquator des Tieres nach vorn verfolgen konnte, „während die Myophane unverändert bis zur adoralen Wimperspirale fortlaufen“. Wie man auf Klopfpräparaten leicht erkennen kann, reißen die Myoneme bei mangelhafter Fixierung in der oberen Körperregion leicht ab und werden in den unteren Körperabschnitt zurückgezogen, während das bei den Zwischenstreifen natürlich nicht möglich ist. Alle diese Mißgriffe Neresheimer's sind also die Folge ungenügender technischer Methoden.[1]) Daß er weder von einer Alveolarschicht noch von einem Myonemkanal etwas gesehen hat, scheint daher auch nicht erstaunlich.

Zum Schluß möchte ich noch auf die Einpflanzung der Membranellen der adoralen Zone im Körper eingehen. Diese wurde zuerst durch Schuberg (91) genauer bekannt. Nach ihm setzt sich der Basalsaum jeder Membranelle in Gestalt einer dreieckigen „Basallamelle“ ins Körperinnere fort. Jede Basallamelle läuft in ein feines „Endfädchen“ aus, deren Enden sich alle zu einer „Basalfibrille“ vereinigen, die unter der ganzen adoralen Zone hinzieht. Diese Darstellung Schuberg's wurde später von Johnson (93) wie von Maier (02) bestätigt. Zu anderen Resultaten kam indessen Neresheimer (03), dessen Angaben ich hier wörtlich bringen will, da sie mir, selbst an der Hand seiner Abbildungen, nicht genügend klar wurden. Er schreibt (p. 322): „Jede Membranelle scheint zwei verschiedene Fortsätze (Basallamellen) ins Körperinnere zu senden, wo sie sich ganz verschieden verhalten. Betrachtet man nämlich das Peristomfeld von oben, so sieht man bei oberflächlicher Einstellung die Membranellen resp. ihre Basallamellen sich ganz einfach etwa bis zu dem Punkte hinziehen, wo sie auf die Schuberg'sche „Basalfibrille“ treffen sollten (Fig. 11 a); bei etwas tieferer Einstellung bemerkt man, daß diese angebliche „Basalfibrille“ aus den rechtwinklig umgebogenen, stark verdickten „Endfädchen“ der Basallamellen besteht. Sie sind alle nach einer Richtung umgebogen, berühren sich aber untereinander nicht, so daß tatsächlich die „Basalfibrille“ sich bei genauerem Zusehen in ebenso viele Teile auflöst, als Membranellen vorhanden sind (Fig. 11 b).

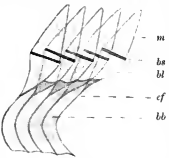
„Bei noch tieferer Einstellung verschwinden diese Gebilde und es zeigen sich weitere Fortsätze, die noch tiefer ins Protoplasma,

[1]) In dem Referat über die Arbeit Neresheimer's im Zool. Centralbl. 10. Jahrg. 1903 p. 601 schrieb bereits Schuberg: „Seine Methoden mahnen allerdings gar sehr zu einer vorsichtigen Beurteilung seiner morphologischen Beobachtungen und lassen diese der Bestätigung bedürftig erscheinen.“

bis zum Randstreif des Stirnfeldes (Schuberg), verlaufen. Diese letzteren Fortsätze gabeln sich teils schon auf der Höhe der sog. „Basalfibrille“, teils erst weiter innen. Einzelne Gabelenden von benachbarten Fortsätzen scheinen sich manchmal zu vereinigen. Im ganzen entsteht hier eine arkadenähnliche Figur, die auf dem Randstreif (*rstf* Fig. 11 c) als Basis ruht. Außerdem erscheint die ganze Zone vom Randstreif bis zu den hakenförmigen Umbiegungen der Endfädchen aus einer Art von Membran zu bestehen. Dadurch, daß diese ganze membranöse Zone sich bei losgelösten Peristomfeldern oft nach innen umschlägt, wird leicht das Bild einer „Basalfibrille“ vorgetäuscht.“

Inzwischen überzeugte sich Prof. Schuberg bei einer erneuten Untersuchung seiner Präparate davon, daß die Endfädchen untereinander durch eine Art Membran verbunden sind, und daß diese Membran auch noch die unteren Abschnitte der Basallamellen an ihrer Innenseite verbände. Diese membranöse Verbindung ist daher wohl von Neresheimer teilweise gesehen worden, ihre Beziehung zu den Membranellen und deren Endfädchen indessen nicht erkannt worden. Diese Mitteilungen über das Verhalten der membranartigen Verbindung, die ich „Basalband“ nennen will, machte mir Herr Prof. Schuberg vor Beginn meiner Untersuchungen, in deren Verlauf ich mich von der Richtigkeit derselben selbst überzeugen konnte.

Auf dem Radialschnitt durch das Peristomfeld Fig. 8 sehen wir eine Basallamelle (*bl*) von der Fläche. Nach unten läuft sie in das Endfädchen (*ef*) aus, welches nach dem Centrum des Peristomfeldes umbiegt. Der innere, dem Peristomfeld zugewandte Rand der Basallamelle erscheint verdickt und daher von dunklerer Färbung als die übrige Basallamelle. Auf Fig. 9 sieht man mehrere Basallamellen (*bl*) von der Kante, also im optischen Durchschnitt. Hier ist deshalb die membranöse Verbindung, das „Basalband“ (*bb*) der Endfädchen von der Fläche wahrnehmbar. Diese Verhältnisse werden durch das nebenstehende Schema (Textfig. 1) genügend erläutert. Auf einigen günstigen Präparaten ließ sich in dem Basalband (Fig. 9 *bb*) eine feine Wabenstruktur nachweisen, und zwar befanden sich in jedem von zwei benachbarten Endfädchen (*ef*) begrenzten Abschnitt des Basal-



Textfig. 1.

bandes (*bb*) regelmäßig zwei Reihen von Waben. Häufig erschien der untere Rand des Basalbandes etwas verdickt, so daß es nicht unmöglich ist, daß dieser verdickte Rand ursprünglich von Schuberg (91) für die Basalfibrille gehalten wurde.

Die möglichen Funktionen der Basallamellen und der „Endfibrille“ wurden schon von Schuberg (91, p. 217) eingehend in Erwägung gezogen. Zunächst wendet er sich gegen die Deutung, die Basallamellen könnten zum Wachstum und zur Ernährung der Membranellen dienen, wie Engelmann (80) von den Faserkegeln der Eckzellen der Muschelkiemen behauptete, denn durch diese Deutung „wäre vor allem das Vorhandensein der Spiralfibrille in keiner Weise zu erklären. Wenn man aber bezüglich der Funktion der in Frage kommenden Apparate überhaupt etwas mit Bestimmtheit behaupten darf, so scheint es mir das zu sein, daß Basallamellen und Spiralfibrille funktionell miteinander in Beziehung stehen, da sie nicht nur unmittelbar und aufs innigste zusammenhängen, sondern auch gegen Reagentien sich gleich verhalten.“

Ebenso weist Schuberg die Deutung zurück, die Basallamellen könnten zur besseren Befestigung der Membranellen im Entoplasma dienen. Die Befestigung der Membranellen erfolge vielmehr an den Basalsäumen, die unzweifelhaft Verstärkungen der Pellicula seien. Auch als kontraktile Elemente sieht Schuberg die Basallamellen und die Spiralfibrille nicht an, da es ihm nicht gelang, eine Kontraktion „bzw. sonst eine Erscheinung wahrzunehmen, die auf eine solche hätte schließen lassen“.

Schließlich weist er auch (p. 220—221) die Ansicht zurück, die basalen Apparate der Membranellen von *Stentor* als nervös zu deuten (wie es Engelmann (80) für die Fibrillen der Cirren hypotricher Infusorien getan hat), da „für die einzigen Gebilde bei Infusorien, die man bis jetzt überhaupt als nervöse ansprechen könnte, der Beweis ihrer wirklich nervösen Natur ebensowenig erbracht ist, als ich (Schuberg) ihn bei *Stentor* zu leisten imstande bin“. „Obgleich ich aber von Anfang an selber geneigt war, ihre Bedeutung in dieser Richtung zu suchen, muß ich gestehen, daß mir hierzu die nötigen Beweise mangeln.“ „Leider ist mein Resultat hinsichtlich der Funktion ein negatives; keine der angeführten möglichen Vermutungen scheint mir genügend wahrscheinlich gemacht, um mit einiger Sicherheit angenommen werden zu können.“

Johnson (93, p. 491) scheint der Ansicht zuzuneigen, die Funktion der Basalfibrille sei eine nervöse und bestehe darin, die Bewegung der Membranellen zu regeln.

Maier (02) sieht die Basallamelle ebenso wie die Basalsäume als zur Befestigung der Membranellen dienend an; die Endfädchen und die Basalfibrille hält er dagegen für kontraktil. Er glaubt (p. 136) „die Basalfibrille für ein kontraktiles Gebilde halten zu müssen, welches die Anfgabe hat, bei der Kontraktion des Körpers die intracellulären Fortsätze der Membranellen, d. h. die Basallamellen, einander zu nähern". Auf einem Mißverständnis beruht es jedoch, wenn Maier es für die Ansicht Schuberg's hält, daß die basalen Apparate der Membranellen nervöser Natnr seien. Wie wir oben gesehen haben, hat Schuberg sich ausdrücklich gegen diese Deutung gewandt.

Neresheimer (03) läßt die Frage, ob es sich um nervöse Gebilde handelt, unentschieden. Bei seinen Vergiftungsversuchen ist ihm ein Einfluß der Nervengifte anf die Wimperbewegung niemals aufgefallen, was also gegen die nervöse Natur der Basalapparate spricht.

Die genaueren Untersuchungen haben nnnmehr gezeigt, daß die Verbindung der Basallamellen untereinander eine viel innigere ist, als bisher angenommen worden war. Statt einer Basalfibrille haben wir es mit einem breiten Basalband zu tun. Nichts spricht dafür, dieses Basalband als nervös aufzufassen. Aber auch für kontraktil halte ich es durchaus nicht. Schon der Umstand, daß das Basalband auch die unteren Abschnitte der Basallamellen verbindet, spricht dagegen, da eine Befestigung am Rande der Basallamellen doch höchst ungeeignet ist, diese einander zu nähern, da die Zugkraft nur an einer Seite der Basallamellen wirken könnte. Mir scheint daher die Funktion des Basalbandes darin zu bestehen, sämtliche Basallamellen möglichst fest miteinander zu verbinden.

Der ganze Basalapparat der Membranellen von *Stentor* hat somit wahrscheinlich eine mechanische Funktion. Die Membranellen selbst sind an den Basalsäumen befestigt. Diese wiederum haben größeren Halt durch die von ihnen in die Tiefe sich erstreckenden Basallamellen, die ihrerseits durch das Basalband sich gegenseitigen Halt gewähren können. Diese letzte Auffassung von der Funktion des Basalapparates wird jetzt auch von Prof. Schuberg geteilt.

Die vorliegende Arbeit wurde im zoologischen Institut zu Heidelberg ausgeführt. Für die freundliche Hilfe, die mir durch Herrn Prof. Bütschli zuteil wurde, sage ich ihm auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank.

Heidelberg, Januar 1906.

Literaturverzeichnis.

87—89 Bütschli, O.: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. I Abt. 3.

80 Engelmann, Th. W.: Zur Anatomie und Physiologie der Flimmerzellen. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 23 p. 505—535.

93 Johnson, H. P.: A contribution to the morphology and biology of the Stentors. Journ. of Morphology Vol. VIII 1893 p. 467—562.

02 Maier, H. N.: Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 73—179.

03 Neresheimer, E. R.: Über die Höhe histologischer Differenzierung bei heterotrichen Ciliaten. Arch. f. Protistenk. Bd. II p. 305—324.

06 Schröder, O.: Beiträge zur Kenntnis von Campanella umbellaria. Arch. f. Protistenk. Bd. VII Heft 1.

06 —: Beiträge zur Kenntnis von Epistylis plicatilis. Arch. f. Protistenk. Bd. VII Heft 2.

06 —: Beiträge zur Kenntnis von Vorticella monilata. Arch. f. Protistenk. Bd. VII Heft 3.

91 Schuberg, A.: Zur Kenntnis des Stentor coeruleus. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. d. Tiere Bd. 4 p. 197.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Die Figuren wurden mit Benutzung eines Zeiss'schen Mikroskops entworfen.

Allgemeine Bezeichnungen.

alv = Alveolarschicht.
bb = Basalband der Membranellen.
bk = Basalkörperchen der Cilien.
bl = Basallamelle der Membranellen.
bs = Basalsaum der Membranellen.
c = Cilien.
cf = Cilienähnliche Fortsätze am Hinterende.
ef = Endfädchen der Basallamelle der Membranellen.
fp = Fußplasmamasse.
lm = Längsmyoneme.
m = Membranelle.
mk = Myonemkanal.
pm — Myoneme des Peristomfeldes.
pr = Rippenstreifen des Peristomfeldes.
pz = Zwischenstreifen des Peristomfeldes.
r — Rippenstreifen.
rst = Randstreifen des Peristomfeldes.
z = Zwischenstreifen.
zrst = Zwischenstreifen im Randstreifen.

Fig. 1. *Stentor coeruleus*: Oberflächlicher Teil eines Querschnittes durch die mittlere Körperregion. Fix. Flemming's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 2. *Stentor coeruleus*: Wie Fig. 1, nur hat der Querschnitt der Moyneme ein anderes Aussehen.

Fig. 3. *Stentor roeselii*: Desgl. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. Hämatoxylin-Chromsaures Kali und Eosin. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 4. *Stentor roeselii*: Desgl. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 5. *Stentor coeruleus*: Teil eines optischen Querschnittes durch die Körperoberfläche eines lebenden, unter dem Deckglase etwas gepreßten Exemplars. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 6. *Stentor coeruleus*: Flächenschnitt durch die Körperoberfläche. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 7. *Stentor roeselii*: Wie Fig. 6.

Fig. 8. *Stentor coeruleus*: Teil eines radiären Längsschnittes durch den Rand des Peristomfeldes mit der adoralen Zone. Die Zwischen- und Rippenstreifen, sowie auch der Randstreif des Peristomfeldes sind quer getroffen. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 9. *Stentor coeruleus*: Stück der adoralen Zone nach einem Klopfpräparat in tangentialem optischen Querschnitt. Die Basallamellen (*bl*) von der Kante, das Basalband (*bb*) von der Fläche gesehen. Fix. Flemming's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 8, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 10. *Stentor roeselii*: Teil eines Längsschnittes durch das Hinterende. Hinteres Ende der Zwischenstreifen und Umbiegung der Längsmyoneme ins Innere. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 11. *Stentor coeruleus*: Myoneme von der Kante gesehen; nach einem Flächenschnitt der Köperoberfläche. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Fig. 12. *Stentor roeselii*: Myonem von der Fläche gesehen; nach einem Längsschnitt. Fix. Hermann's Gemisch, Färb. nach Mallory. Comp. Oc. 12, Apochr. Imm. 2 mm.

Travail du laboratoire de zoologie de l'université de Grenoble.

Untersuchungen über Coccidien.
I. Adelea zonula nov. sp.

Von

Dr. Theodor Moroff.

(Hierzu Tafel II und 24 Textfiguren.)

Bis jetzt sind mehrere Arten der Gattung Adelea bekannt, die, obwohl im großen und ganzen in ihrer Entwicklung und hinsichtlich ihrer Cytologie übereinstimmend, doch im einzelnen bemerkenswerte Unterschiede aufweisen, so daß es entschieden falsch wäre, die Resultate vom Studium nur einer Art als maßgebend für die ganze Gattung anzusehen. Nach der ausgezeichneten Bearbeitung der Coccidien in den letzten zehn Jahren war ich mir bewußt, wie ich diese Untersuchung vornahm, daß man zu keinen überraschenden Resultaten mehr kommen könne. Im Laufe der Untersuchung haben sich jedoch so viele interessante Details herausgestellt, sei es im Kern während der Entwicklung des Parasiten, sei es im Plasma selbst, daß es mir der Mühe wert erscheint, diese Resultate zu veröffentlichen. Der ursprüngliche Zweck dieser Untersuchungen war in erster Linie der, persönliche Erfahrungen in dieser Protozoengruppe zu sammeln.

Bevor ich jedoch zur Darstellung der Untersuchungen selbst schreite, sei es mir auch an dieser Stelle gestattet, Herrn Prof. Louis Léger für den mir in seinem Laboratorium in liberalster Weise zur Verfügung gestellten Platz sowie für seinen wertvollen Rat, mit dem er mir während der ganzen Untersuchung behilflich

war bestens zu danken. Herrn Edmond Hesse, Präparator im Laboratorium, für seine liebenswürdige Unterstützung während der Untersuchung und meinem Freunde Herrn Carl van Douwe für die freundliche Durchsicht des Manuskripts sowie für das Lesen der Korrekturbogen schulde ich ebenfalls meinen besten Dank.

Material und Untersuchungsmethoden.

Die in nachstehendem beschriebene neue Art lebt in den Larven von Blaps mortisaga, und zwar ausschließlich in ihren Fettkörpern. Zu meinen Untersuchungen dienten mir auf natürlichem Wege infizierte Larven; außerdem unternahm ich mehrmals eine künstliche Infektion, die aus mir nicht recht begreiflichen Gründen leider nur teilweise gelang.

In dem hiesigen Zoologischen Institut befanden sich zwei große Bechergläser, worin sich die Larven und die erwachsenen Tiere dieses Insektes, von zwei verschiedenen Lokalitäten stammend, vorfanden. In dem einen Glas waren alle Larven infiziert; gewöhnlich wies jede derselben alle Parasiten ziemlich in demselben Entwicklungsstadium auf, was wohl auf eine einmalige Infektion hindeutet. Hingegen gab es aber auch solche, die ziemlich alle Entwicklungsstadien des Parasiten enthielten. Dieses Material habe ich auch für meine Untersuchungen benutzt.

Im zweiten Glase waren alle Tiere vollkommen parasitenfrei, und in den Dutzenden von Larven, die ich öffnete, habe ich niemals meinen Parasiten wahrnehmen können, hingegen wiesen sie in ihrem Darm regelmäßig Stylorhynchus auf, den ich in den Larven vom ersten Glas nicht beobachten konnte. Diese Larven habe ich zu künstlichen Infektionen verwendet.

Die künstliche Infektion wurde ausgeführt, um das Auswandern, die Form, die Struktur und die Bewegung der Sporozoiten zu studieren; außerdem um festzustellen, welchen Weg sie einschlagen, um in die Leibeshöhle zu gelangen. Man weiß überhaupt noch nicht, welchen Weg eine Coccidienform benutzt, um in die Leibeshöhle zu kommen; es ist jedoch leicht zu vermuten, daß der Parasit für diesen Zweck die Darmwand durchbohrt. Nur Léger (8), Schaudinn und Siedlecki (23) haben die Sporozoiten der Gattung Adelea beobachten können.

Zuerst wird den Larven mehrere Tage (4—5) die Nahrung entzogen, um sie dadurch auszuhungern. Die reifen Cysten samt dem

sie umgebenden Fettkörper werden mit Kleie gut vermischt und fein zerrieben; sie werden mit Wasser auch etwas angefeuchtet. So zubereitet wird diese halbtrockene Substanz den Larven zu fressen gegeben.

Ich habe so ungefähr 50 Larven während 24 Stunden mit der so präparierten Kleie gefüttert und diese dann entfernt, hierauf wurden zuerst jeden Tag 1—2 und später alle 3—4 Tage je eine Larve konserviert. Eine zweite Serie von 25 Larven wurde alle 3—4 Tage von neuem infiziert und nach jeder Infektion 1—2 Larven fixiert.

Sporozoiten.

Einen Tag nach der Infektion findet man in dem geöffneten Darm sowohl ausgeschlüpfte freischwimmende Sporozoiten, als auch ganze Cysten. Durch Abspringen einer Partie an der Oocyste bildet sich eine große, unregelmäßige Öffnung, durch die die Sporozoiten herauskriechen; hingegen, wie es bereits Léger bei Adelea dimidiata beobachtet hat, bildet sich an der Cyste gewöhnlich eine lange Spalte, wodurch sie fast in zwei Teile geteilt wird; so gesprengt bietet die Cyste dem Sporozoiten keine Schwierigkeiten bei seinem Herauskriegen.

Die freien Sporozoiten weisen eine schlanke, stark abgeplattete Gestalt auf, gewöhnlich schwankt ihre Größe zwischen 16—20 μ; ihre Breite (2,5—3,5) ist ebenfalls kleinen Variationen unterworfen; das Vorderende ist meistens breiter als das hintere (Fig. 1 a). Mit schwacher Vergrößerung scheint das etwas trüb aussehende hyaline Plasma von sehr kleinen lichtbrechenden Körnchen erfüllt zu sein. Einige größere, viel glänzendere runde Körnchen sind darin zerstreut (Fig. 1 a—b), die ich als Reservenahrungsstoff betrachte. Hingegen löst sich bei einer starken Vergrößerung die Granulierung des Plasmas wie bei Eimeria schnbergi (Schaudinn) in das Bild eines feinen Netzwerkes auf, nur mit dem Unterschiede, daß die Maschen hier viel enger und regelmäßiger sind. Die Unterscheidung von einem Ekto- und Entoplasma ist auch hier nicht möglich. Die äußersten Alveolen bilden direkt den Abschluß des Sporozoiten;



1 a 1 b

Fig. 1 a—b. Soeben aus der Cyste ausgeschlüpfte Sporozoiten von Adelea zonula in verschiedenen Stadien der Gestaltsveränderung. 1500 : 1.

überhaupt habe ich von dem feineren Bau des letzteren denselben Eindruck erhalten wie Schaudinn von Eimeria Schubergi. Äußerst schwierig gelingt es, und dies nur bei günstiger Beleuchtung, den Kern als einen etwas stärker lichtbrechenden Körper am Hinterende des lebenden Sporozoiten wahrzunehmen (Fig. 1b).

An gefärbten Präparaten weist das Netzwerk eine sehr feinmaschige Struktur auf, das Plasma ist sehr schwach gefärbt. Viele, an Zahl variierende, chromatoide Körnchen, entweder in der Mitte der Sporozoiten lokalisiert oder gleichmäßig im ganzen Plasma verteilt, sind deutlich zu sehen. Sehr oft sieht man Sporozoiten, die ganz frei von diesen Körnchen sind (Fig. 2d). Es ist jedoch sehr unwahrscheinlich, daß ihr Vorhandensein oder ihr Fehlen in den Sporozoiten als ein Geschlechtsunterschied angesehen werden kann, da die Menge derselben sehr schwankend ist. Der Kern befindet sich zuerst, kurz nachdem die Sporozoiten ausgekrochen sind, dicht am Hinterende. Seine Form ist sehr eigentümlich; entsprechend der abgeplatteten Form des Sporozoiten ist auch er sehr stark komprimiert: seine Chromatinkörnchen sind in einer Schicht angeordnet; er behält eine oberflächliche Lage und ist infolgedessen auch schwach gewölbt (Fig. 2a—b). Eine Abgrenzung von dem übrigen Plasma ist kaum wahrzunehmen. Die einzelnen Körnchen sind mit sehr feinen farblosen Lininfädchen miteinander verbunden.

Der freie Sporozoit schwimmt sehr geschickt im Darmsaft herum, und führt dabei die verschiedensten Bewegungen aus; sehr oft biegt er sich wellenförmig oder er dreht sich nach der Art einer Spirale (Fig. 2b—c). Insbesondere zeichnet sich sein Vorderende durch eine besondere Plastizität aus.



2a 2b 2c 2d

Fig. 2a—d. Sporozoiten von Ad. zonula im Darm von Blaps. Nach Schnittpräparaten. Fixierung Sublimatalkohol. 1500 : 1.

Viel interessanter sind die kriechenden Bewegungen, bei denen er eine Reihe von Gestaltsveränderungen ausführt. Hier streckt

sich das Vorderende sehr stark aus, bekommt hierdurch eine sehr stark verjüngte Gestalt, worauf nach der Bewegungsart eines Regenwurms das hintere Ende nach vorn fließt; oder aber es findet ein Hinfließen des ganzen Tieres nach der Art einer Amoeba limax statt ohne eine Andeutung von Plasmapseudopodien. Wenn bei dieser Bewegungsart dem Sporozoiten Hindernisse begegnen, sucht er sie dadurch zu umgehen, daß sein Plasma nach dieser oder jener Seite hinfließt. In einem solchen Falle verbreitert sich erst die Spitze sehr stark lappenförmig, um dann unmerklich sich nach der einen oder anderen Seite zu verlängern; das im Vorderende angesammelte Plasma fließt nach, auf diese Weise das Hindernis umgehend. Schaudinn hat bei Eimeria Schubergi eine ringförmige Einschnürung beobachtet, die gewöhnlich dicht hinter der hyalinen Vorderspitze beginnt und dann langsam als stetig fortschreitende Welle nach hinten über den ganzen Körper verläuft; eine ähnliche Gestaltsveränderung habe ich bei meiner Form nicht beobachten können.

Im Laufe der Zeit nimmt aber der Sporozoit immer mehr eine definitive, fest bestimmte Form an; der Körper erlangt eine drehrunde Gestalt; diese Veränderung findet jedoch nicht überall gleichmäßig statt, sondern es rundet sich zuerst das Hinterende ab, und dieses verliert die Fähigkeit, seine Form zu wechseln, dann schreitet dieser Zustand langsam nach vorn. Es ist interessant, ein so halbverändertes Tier in seinen Bewegungen zu beobachten. Hier wechselt das Vorderende noch sehr stark die Form, streckt sich, wie bereits erwähnt, nach der Art eines Wurmes nach vorn, dabei wird diese Ausstreckung nach hinten immer unmerklicher, so daß hinter der Mitte keine Bewegung mehr zu sehen ist. Dadurch nimmt es eine sehr fein ausgezogene Gestalt an, die nach hinten allmählich stärker wird. Sobald sich die Metamorphose ganz vollzogen hat, bekommt der sich an beiden Enden zuspitzende Merozoit eine etwas schwach gekrümmte Gestalt. Das Vorderende zeigt außerdem ein starkglänzendes hyalines Rostrum. Ein so veränderter Sporozoit weist hinfort nur dieselben Bewegungen auf, die bereits von Eimeria und verschiedenen Gregarinen ausführlich beschrieben sind. Es macht mir auch den Eindruck, als ob das Protoplasma dabei das trübe Aussehen verliert und dafür durchsichtiger wird und eine zartere Konstitution bekommt.

An gefärbten Präparaten kann man auch die verschiedenen Veränderungen, die der Kern während der Metamorphose durchmacht, leicht verfolgen. Zuerst besteht er aus einer einzigen Schicht

an Größe etwas schwankender Chromatinkörnchen und ist etwas gewölbt, sowie aber das Hinterende des Sporozoit eine runde Gestalt angenommen hat, bekommt er auch eine bläschenförmige, zuerst ovale und später runde Gestalt. Seine Chromatinkörnchen bilden jetzt an der Oberfläche eine mehr oder minder dichte Schicht von Chromatin, deren optischer Schnitt einen aus kleinen Chromatinkörnchen zusammengesetzten Ring darstellt (Fig. 3). Außerdem sieht man in seinem Innern mehrere staubförmige, meistens in einer Reihe angeordnete Chromatinkörnchen, von denen sich eins oder zwei durch ihre Größe besonders auszeichnen. Die einzelnen Körnchen sind durch feine farblose Lininfäden miteinander verbunden; insbesonders ist manchmal sehr deutlich zu beobachten, wie diese feinen Fäden von den mittleren Körnchen zur Peripherie radiär verlaufen. Gleichzeitig fängt der Kern an, nach vorn zu rücken; zuerst dicht am Hinterende gelegen, hat er sich etwas später von dort um etwas entfernt; diese Wanderung dauert solange an, bis er ungefähr die Mitte des Tieres erreicht hat, wo er stehen bleibt (Fig. 3).

Der Sporozoit verbleibt in dem Darme mehrere (12—15) Stunden, während welcher Zeit er auch die Metamorphose durchmacht. Nicht ganz selten gibt es aber auch Sporozoiten, die, ohne diesen Prozeß vollkommen durchgemacht zu haben, bereits in die Epithelzelle eindringen, so daß man manchmal in der Darmwand Sporozoiten begegnet, deren Kern noch hinterhalb der Mitte zu sehen ist und deren Gestalt ziemlich breit aussieht. Solche Fälle dürften aber eher als Ausnahmsfälle zu betrachten sein.

Das Eindringen des Sporozoiten in die Epithelzellen habe ich direkt nicht beobachten können, kann daher auch nicht angeben, welche Bewegungen er bei seiner Anstrengung, in die Darmwand einzudringen, ausführt. An gefärbten Präparaten sind jedoch mit Leichtigkeit überall alle Stadien in reichlicher Menge zu finden. Anscheinend werden dem Parasiten keine großen Schwierigkeiten bei seinem Durchpassieren durch den Darm entgegengesetzt, da er stets seine natürliche, ausgestreckte Form beibehält. Stark gekrümmte Parasiten oder solche, die an ihrer Oberfläche Anschwellungen oder sonstige auf Anstrengungen hindeutende Unregelmäßigkeiten aufweisen, habe ich nicht beobachten können. Meistens bohren sie sich an der Grenze zwischen zwei Zellen durch, nicht selten sieht man aber auch solche, die sich den Weg quer durch die Zellen bahnen.

Die Sporoblasten- und Sporocystenwand wird unter der Einwirkung des Darmsaftes im mittleren Darm und zwar in seinem am stärksten ausgebreiteten vorderen Teil gesprengt. Dort ver-

bleiben auch die Parasiten während der ganzen Metamorphose und dringen in die Darmwand ein, ohne sich in dem übrigen Darm auszubreiten. In dem Stomodeum und Proctodeum sowie in der hinteren Partie des Mitteldarms selbst habe ich die Parasiten niemals, weder in dem Lumen selbst noch in der Darmwand, beobachten können.

Gregarineninfektion.

Zwischen den reifen Sporocysten von Adelea zonula befanden sich in genügender Menge auch solche von Stylorhynchus longicollis F. St., so daß ich neben der Infektion von Adelea auch die von Stylorhynchus auf instruktive Weise beobachten konnte. A. Schneider (24) war der erste, der die Entwicklung der Gregarinen studiert hat; er hat jedoch keine künstliche Infektion unternommen, sondern einfach die in langer Gefangenschaft gehaltenen Blapse untersucht in der Meinung, daß sie sich ständig von neuem infizieren, indem sie ihre Exkremente auffressen. Nach seinen Untersuchungen dringen die neuausgeschlüpften Sporozoiten in die Darmwand ein, wo sie ein intracelluläres Stadium durchmachen; erst später wandern sie wieder aus der Darmzelle heraus und machen den Rest ihrer Entwicklung im Darm selbst durch. Diese Ansicht wurde später fast ausnahmslos von allen Gregarinenforschern geteilt und überall als eine feststehende Tatsache hingenommen. Erst Léger und Duboscq (12) wurden durch ihre umfangreichen experimentellen Infektionen zu einer anderen Ansicht geführt.

Zuerst haben sie festgestellt, daß die sog. intracellulären Gregarinenstadien Schneider's und der folgenden Forscher nichts Gemeinsames mit den Gregarinen zu tun haben, sondern einfache Umwandlungsprodukte von in Degeneration begriffenen Epithelzellen sind: Einmal sind sie Umwandlungsprodukte des Chromatins, ein anderes Mal, und dies viel häufiger, umgewandelte Schleimsubstanz. Hingegen dringen die Gregarinen in keinem Stadium ihrer Entwicklung in die Epithelzellen ein. Schon von Anfang an bleiben sie mit ihrem größten Teil, worin sich stets auch der Kern befindet, außerhalb der Wirtszelle, und dringen, an die Darmwand anhaftend, nur mit ihrem Vorderende ein, so daß L. u. D. den Satz aufstellten: Die Gregarinen sind im Gegensatz zu den Coccidien extracelluläre Parasiten und während keines Stadiums ihrer Entwicklung dringen sie in den Darm ihres Wirtes ein. Auf Grund weiterer Untersuchungen und Angaben anderer Autoren haben Léger und Duboscq (13) selbst diese Behauptung später modifizieren müssen.

Im Laufe der Gregarinenforschung hat man in der Tat Formen festgestellt, die zuerst ganz in die Wirtszelle eindringen und erst später herauswandern, z. B. Gregarina acridiorum (BERNDT, 1), Stenophora (LÉGER und DUBOSCQ, 13) usw.

Was die Entwicklung von Stylorhynchus longicollis anbelangt, kann ich die Untersuchungen von LÉGER und DUBOSCQ vollauf bestätigen. Während keiner Periode seiner Entwicklung macht dieser Parasit ein intracelluläres Stadium durch. Die von SCHNEIDER und den folgenden Autoren als intracelluläre Stadien des Stylorhynchus betrachteten Gebilde sind nichts anderes als degenerierte Epithelzellen.



Fig. 3. Schnitt vom Darm des Blaps mit mehreren darin eingedrungenen Sporozoiten, die die Metamorphose bereits durchgemacht haben. Außerdem zwei auf den Epithelzellen angehaftete Stylorhynchus.

Eine Verwechselung zwischen den Sporozoiten dieser Gregarinenart und denjenigen von Adelea zonula ist fast unmöglich, da ihre Struktur ganz verschieden ist; insbesonders solange die Sporozoiten von Adelea zonula noch nicht ihre Metamorphose durchgemacht haben. Nachdem sich aber diese Umwandlung vollzogen hat, unterscheiden sie sich noch immer durch ihre Größe und insbesondere durch die Struktur ihres Kerns. In Stylorhynchus ist das Chromatin des Kerns in Form von zwei Halbmonden an dessen Peripherie gelagert, und außerdem ist in der Mitte des Kerns außer dem Centrosom oder Karyosom kein anderes Chromatingebilde zu sehen. Selbst das Karyosom ist weit größer und stärker lichtbrechend als bei Adelea. Ferner bleiben die Sporozoiten von Stylorhynchus an der Darmwand hängen, hingegen die von Adelea darin eindringen. In Fig. 3 sind zwei Sporozoiten von Stylorhynchus neben denjenigen von Adelea gezeichnet, woraus man sogleich den Unterschied zwischen den beiden Formen ohne weiteres ersieht.

Schizogonie.

Da mir die künstliche Infektion nicht vollkommen gelang, konnte ich das Heranwachsen der Sporozoiten zu Schizonten nicht verfolgen. Wie aber bereits ausführlich geschildert, machen die Sporozoiten zuerst im Darm eine Metamorphose durch, so daß sie in der Darmwand bereits eine sehr merozoitenähnliche Gestalt aufweisen; es ist infolgedessen sehr wahrscheinlich, daß die Schizogonie bei ihnen auf dieselbe oder auf eine sehr ähnliche Weise wie bei den Merozoiten vor sich geht. Zu einer solchen Annahme sind wir um so mehr berechtigt, als Schaudinn bereits bei Eimeria schubergi und Cyclospora caryolytica festgestellt hat, daß die Schizogonie bei den Sporozoiten und Merozoiten sich auf eine ganz ähnliche Weise vollzieht. Durch dieses Fehlschlagen der Infektion war mir auch die Möglichkeit genommen, annähernd die Zeit zu bestimmen, die ein Sporozoit eventuell Merozoit braucht bis zum Heranwachsen zum vollkommenen Schizont.

Die soeben von dem fertigen Schizonten losgelösten Merozoiten haben eine schlanke Gestalt; ihr Vorderende ist viel mehr verjüngt als das etwas rasch zugespitzte Hinterende; um diese Zeit ist noch kein Rostrum zu sehen (Fig. 4), außerdem ist das ausgestreckte Vorderende etwas eckig zusammengedrückt; erst etwas später nehmen die Merozoiten eine drehrunde spindelförmige Gestalt an (Fig. 4b) und bilden ihr Rostrum aus, indem das Vorderende sich

schärfer zuspitzt und eine stärker lichtbrechende Konsistenz annimmt. Sie sind 15—20 μ lang und 2—4 μ breit und sehen im frischen Zustand hyalin aus. Von den Sporozoiten unterscheiden sie sich durch ihr steiferes Aussehen, haben auch nicht die Fähigkeit, ihre Form zu wechseln, hingegen sind ihre Bewegungen viel energischer als bei den Sporozoiten. Der Parasit krümmt sich so stark, daß er einen Ring bildet, indem sich seine beiden Enden bedeutend übereinander kreuzen; durch eine sehr energische Bewegung nimmt er seine ursprüngliche Form wieder an. Nachdem er sich so mehrere Male gekrümmt und ausgestreckt hat, gleitet er nach einer Richtung hin. Da alle Bewegungen ähnlich wie bei anderen Coccidien sind, will ich nicht länger dabei verweilen.



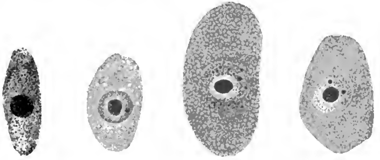
Fig. 4. Zwei Merozoiten von Adelea zonula. 1500:1.

An gefärbten Präparaten ist das Protoplasma der Merozoiten sehr klar und fein alveolär, die Maschen weisen ungefähr dieselbe Weite wie bei den Sporozoiten auf; also auch hier sind sie viel enger als bei Adelea ovata, ja sogar etwas enger als bei Eimeria schubergi und selbst Cyclospora caryolytica. Der Kern findet sich annähernd in der Mitte und hat meistens eine längliche Form. Er setzt sich aus vielen kleinen Chromatinkörnchen zusammen, die entweder an seiner Oberfläche in einer Schicht angeordnet sind und in seiner Mitte nur als eine Reihe ganz kleiner staubförmiger Chromatinkörnchen zu sehen sind; oder aber sie sind gleichmäßig in demganzen Kern verteilt, dann sieht man eine kleine hellere chromatinfreie Stelle, in deren Mitte sich gewöhnlich ein kleines Chromatinkörnchen befindet.

Die Fettzellen setzen dem Merozoiten bei seinem Eindringen, wie es scheint, keinen großen Widerstand entgegen, was auch daraus zu schließen ist, daß das Rostrum nicht so gut ausgebildet ist wie bei den anderen Coccidien. Nachdem der Parasit in die Fettzelle eingedrungen ist, behält er meistens seine schlanke Gestalt bei und ein Wachstum in die Länge findet in sehr begrenztem Maße statt, da der erwachsene, bereits sich zur Schizogonie anschickende Merozoit ungefähr dieselbe Länge aufweist wie im Anfang. Während der Wachstumsperiode nimmt der Schizont sehr an Dicke zu, so daß er zuletzt die Form einer schlanken Rotationsellipse annimmt; dann ist er durchschnittlich 20—27 μ lang und 12—15 μ breit. Das Plasma bleibt während des ganzen Wachstums fein alveolär, jedoch bleiben die Maschen in der Mitte merklich enger als an der Peripherie,

sie überschreiten kaum 0.5—0.75 μ; im Vergleich mit Adelea ovata sind sie weit enger und feiner. Das Plasma bleibt sehr klar. An der Oberfläche kann man kaum eine besonders differenzierte Plasmaschicht unterscheiden.

Viel wichtiger sind die sich während des Wachstums des Schizonten am Kern abspielenden Prozesse, die auch deswegen unser Interesse stärker in Anspruch nehmen, da sie im Gegensatz zu den anderen uns bekannten Coccidien manche auffallende Eigentümlichkeiten aufweisen. Bereits während des Ablösens des Merozoiten vom Schizont, oder kurz darauf, ist ein ganz kleines, etwas helleres Höfchen im Kern zu sehen, worin ein ganz kleines Chromatinkörnchen deutlich wahrzunehmen ist. Bald nimmt jedoch der Kern eine runde Gestalt an und eine größere Chromatinmasse, die ich als Karyosom bezeichne und über deren Entstehung ich weiter unten berichten werde, kommt in die Mitte zu liegen. Um ihn herum ist ein mehr oder minder breiter heller Hof; dann beginnt eine weit breitere Partie des Kerns, worin die Chromatinsubstanz in Form von kleinen Körnchen verteilt ist. An der Grenze dieser beiden Zonen ist das zweite aus dem Schizonten her bekannte Chromatinkörnchen zu



5 6 7 8

Fig. 5—8. Das Heranwachsen der Merozoiten zu Schizonten; in Fig. 8 hat sich das Nukleolo-Centrosom bereits geteilt. 1500 : 1.

sehen, das sich von seiner Umgebung durch seine stärkere Färbbarkeit auszeichnet; es ist von den es umgebenden Chromatinkörnchen das größere, jedoch mehreremals kleiner als das Karyosom selbst (Fig. 6). Infolge seines Verhaltens bei der Kernteilung will ich es als Nukleolo-Centrosom [1]) bezeichnen. Das Kerngerüst hat ein eng-

[1]) Wegen seines Verhaltens bei der Teilung der Euglenen wurde für den Nukleolus ihres Kerns von Keuten die Bezeichnung Nukleolocentrosom eingeführt.

maschiges Aussehen. Es scheint, als ob die Alveolen vom Plasma sich in den Kern fortsetzen, nur mit dem Unterschiede, daß sie hier etwas enger sind. Eine Kernmembran ist auch hier nicht zu sehen. Die Kerngrenze wird durch eine stärkere Verdichtung der Alveolen und der Chromatinkörnchen an der Peripherie hervorgerufen. Die Chromatinkörnchen sind in den Wänden dieser Alveolen verteilt, so daß man auf diese Weise den Eindruck bekommt, als ob dieselben durch feine farblose Fäden miteinander verbunden sind. Selbst der sich um das Karyosom befindliche helle Hof zeigt manchmal sehr klar die alveoläre Struktur. Die Chromatinkörnchen sind meistens ziemlich groß, nicht ganz selten sind sie jedoch auch so klein, daß man sie kaum mehr unterscheiden kann.

Sobald der Schizont seine definitive Größe erreicht hat, verlängert sich sein Nukleolo-Centrosom ein wenig und nimmt bald nachher eine hantelförmige Gestalt an. Bald darauf schnürt es sich in zwei annähernd gleiche Teile ab. Auf diese Weise entstehen zwei neue Nukleolo-Centrosomen (Fig. 8), die auseinanderrücken und auf die beiden Seiten des Kerns zu liegen kommen. Immer liegen sie in der Äquatorialebene des Schizonten; in dessen Längsachse wurden sie nicht beobachtet. Hier angekommen, bleiben sie nicht stehen, sondern rücken noch weiter auseinander. In dem Maße, wie dieser Prozeß vor sich geht, verlängert sich auch der Kern. Eine Kerngrenze ist hierbei nicht mehr zu sehen. Die Chromatinkörnchen verteilen sich jetzt in den Maschen der oberflächlichsten Alveolen in einer Schichte (Fig. 9a), und zwar etwa in Form eines Bändchens, das äquatorial um den Schizonten herum verläuft. Etwas später tritt eine schwache Einschnürung in der Mitte dieses Chromatinbändchens ein; an dieser Einschnürungsstelle befindet sich meistens das Karyosom. Die beiden Enden des Kerns haben eine bedeutende Ausbreitung erfahren, außerdem haben sich ihre Chromatinkörnchen in mehr oder minder deutlichen, von den beiden Nukleolocentrosomen radiär ausstrahlenden Reihen angeordnet. In diesem Stadium umgreift der Kern den Schizont manchmal soweit, daß seine beiden Enden nur mehr durch eine sehr schmale Zone voneinander getrennt bleiben (Fig. 9b). In dem Maße, wie die Chromatinkörnchen sich um die beiden Nukleolo-Centrosomen herum anordnen, gehen sie in der Mitte des Kerns auseinander, so daß schließlich dadurch die Teilung des letzteren

Der Funktion nach entspricht diesem Gebilde bei den Coccidien das Karyosom. Obwohl das Chromatinkörnchen bei A. zonula bedeutend abweichend ist, gebrauche ich für dasselbe, um die Einführung eines neuen Terminus zu vermeiden, denselben Ausdruck.

herbeigeführt wird. Das Karyosom bleibt in der Mitte stehen, ohne sich diesem oder jenem Tochterkern anzuschließen. Manchmal wird er, noch im Anfang der Kernteilung, aus demselben ausgestoßen.



9a 9b 9c

Fig. 9a—c. a Teilung des Kerns. b Querschnitt durch einen Schizont, die periphere Anordnung des Chromatins darstellend. 1500:1. c Eine Partie des sich teilenden Kerns sehr stark vergrößert, 3000:1. b—c etwas schematisiert.

Sehr selten wird er dem einen der Tochterkerne zugegeben und erst bei der wiederholten Teilung aus demselben ausgestoßen.

Nachdem also die beiden Tochterkerne auf diese Weise zustande gekommen sind, teilt sich das Nukleolo-Centrosom in jedem derselben auf die gleiche Weise, wie zuerst, in zwei und rücken sogleich auseinander; die Chromatinkörnchen folgen ihnen nach, so daß der Kern von neuem eine längliche Form annimmt. Die beiden annähernd gleichen, um die Nukleolo-Centrosomen angeordneten Chromatinhaufen rücken bald auseinander; zuerst bleiben sie durch eine oder zwei Reihen Chromatinkörnchen in Verbindung (Fig. 15), bald brechen diese jedoch in der Mitte durch und jeder Teil zieht sich zu den Kernen zurück. Die beiden Tochterkerne teilen sich meisteus gleichzeitig, selten geht der eine dem anderen etwas voran. Der hier beschriebene Teilungsvorgang wiederholt sich mehrmals. Mit dem sukzessiven Kleinerwerden des Nukleolocentrosoms verliert es, wie es scheint, an Attraktionskraft, so daß sich die Kerne gegen das Ende ihrer Vermehrung auf eine direkte Weise zu teilen beginnen, indem sie auch einen Zwischenkörper bilden (Fig. 11). Am Ende der Kernvermehrung resultieren 16—40 Kerne. Bei den weiteren Teilungen ist das Nukleolo-Centrosom wegen seiner Kleinheit meistens sehr schwer zu sehen. Immerhin ist es aber, solange sich die Chromatinkörnchen noch nicht zu einem kompakteren Kern zusammengezogen haben, in deren Mitte als ein stärker gefärbtes Körnchen zu konstatieren (Fig. 10 u. 12). Die Kerne ordnen sich entweder

in der Mitte des Schizonten in einer Reihe an, oder sie bilden deren zwei den beiden Polen des Schizonten mehr oder minder genäherte Reihen; es ist also hier ganz dieselbe Erscheinung zn beobachten wie bei den übrigen Coccidien.



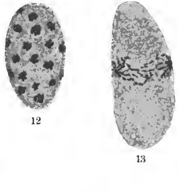


Fig. 10—15.
Kernteilung des Schizonten; in Fig. 13—14 st das Chromatin sehr deutlich um die Nukleolo-Centrosomen strahlig angeordnet.

Auf die Entstehung des Karyosoms hatte ich meine Aufmerksamkeit besonders gerichtet. In dem ganz jungen Merozoit sieht man, wie bereits erwähnt, meistens einen kleinen hellen Hof, worin ein kleines Chromatinkörnchen deutlich zu unterscheiden ist. Nach meinen Beobachtungen läßt sich mit ziemlicher Sicherheit behaupten, daß dieses Chromatinkörnchen nichts anderes als das Nukleolo-Centrosom ist, was auch nach der Art und Weise, wie die Kernteilung vor sich geht, zu erwarten ist. Das Nukleolo-Centrosom ist also ein ständiges Gebilde in dem Kern, das sich kontinuierlich während der ganzen Entwicklung des Parasiten fortsetzt. Hingegen wird das Karyosom bei jeder Schizogonie aus dem Kern expulsiert und in dem jungen Merozoiten von neuem gebildet. In dem letzteren sieht man nicht weit vom Kern im Plasma selbst ein rundliches, verhältnismäßig großes Gebilde, das sich von seiner Umgebung dadurch unterscheidet, daß es etwas dichter zusammengefügt ist und sich mit Hämatoxylin etwas deutlicher als seine Umgebung färbt,

jedoch viel schwächer als die Chromatinkörnchen selbst. In mit Eosin nachgefärbten Präparaten nimmt es eine helle, rötlich-violette Farbe an. Später sieht man es ganz dicht an den Kern angestoßen; nicht selten bemerkt man auch Merozoiten, bei denen es eine bedeutende Größe erreicht hat und vom Kern in Form einer Kappe halb umgriffen wird. Vom Kern allmählich immer mehr umhüllt, kommt es schließlich ganz darin zu liegen, zuerst exzentrisch, später jedoch nimmt es ziemlich die Mitte des Kerns ein. In dem Maße, wie das Karyosom sich dem Kern nähert, gewinnt es an Färbungsvermögen, jedoch behält es eine Zeitlang noch immer mehr oder minder seine Neigung zum Eosin bei, infolgedessen es sich etwas rötlicher färbt, als das es umgebende Chromatin. Erst während des späteren Wachstums des Schizonten nimmt es, sehr viel Chromatin in sich auf, was sich durch seine stärkere Färbbarkeit kundgibt; ebenso treten in ihm auch einige Vakuolen auf.

Positive Beobachtungen über die Entstehung des Karyosoms hat uns Schaudinn in seinen bekannten Arbeiten über Eimeria schubergi und Cyclospora caryolytica (20, 21) gegeben. Nach ihm rücken beim Wachstum des Kerns die meisten größeren Chromatinbrocken nach dem Centrum dichter zusammen, gleichzeitig tritt zwischen denselben eine diffuse Substanz auf, die sich durch ihre geringere Färbbarkeit auszeichnet. Dieselbe verbindet die einzelnen Chromatinbrocken und klebt sie immer mehr zusammen. Auf diese Weise bildet sich diese Substanz mit den sie einlagernden Chromatinkörnchen zu einem soliden kugeligen Körper aus. Daraus geht hervor, daß sich das Karyosom bei Eimeria schubergi usw. auf eine abweichende Weise als bei Adelea zonula bildet. Bei der letzteren Form entsteht diese schwache lichtbrechende Substanz im Plasma des Parasiten, und erst später wandert sie in den Kern ein; auch findet bei derselben eine sozusagen mechanische Verkittung von Chromatinbrocken kaum statt. Vielmehr macht es mir den Eindruck, daß die während des Wachstums des Schizonten zutage tretende allmähliche Verreicherung der chromatischen Substanz im Karyosom durch eine Aufnahme derselben in gelöstem Zustande vor sich geht. Gegen das Ende der Wachstumsperiode wird im Karyosom soviel Chromatin angesammelt, daß es sich durch seine Färbbarkeit von dem übrigen Kern besonders auszeichnet. Da das Karyosom während des Wachstums des Schizonten sowohl an Größe (bis zu 3 μ) als auch an Dichte zunimmt, ist es wohl sehr naheliegend, daß wir es hier mit einem Gebilde zu tun haben, worin Stoffwechselprodukte aufgespeichert werden, die für die spätere

Existenz der Zelle keine Verwendung mehr haben. Denn eine Abgabe von chromatischer Substanz am Kern vor oder während dessen Teilung, die sich etwa in Verminderung des Färbungsvermögens des Karyosoms bemerkbar machen würde, war nicht zu konstatieren. Ob dieses Stoffwechselprodukt echtes Chromatin darstellt oder mit ihm nur das gemeinsam hat, sich gegen die verschiedenen Chromatinfarbstoffe gleich positiv zu verhalten, darüber kann ich keine genauen Angaben machen. Mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin färbt es sich sehr stark und in fast entfärbten Präparaten ist es noch immer als ein tiefschwarzes rundes Körperchen zu sehen. Mit Hämatoxylin Delafield und Mayer's Hämalaun färbt es sich ziemlich wie die übrigen Chromatinkörnchen, oft jedoch ein wenig schwächer. Mit Safranin, Gentian, Orange (dreifache Färbung nach Heidenhain) färbt es sich ebenfalls sehr stark dunkel violettrot.

Es fragt sich jetzt nun, inwiefern sind wir berechtigt, dieses Gebilde als ein Karyosom anzusehen. Als Karyosom wird eine dichtere Zusammenfügung von Chromatin im Kern, hingegen als Nukleolen die sich mit gewissen Farbstoffen (z. B. mit Eosin, Orange oder Fuchsinsäure), ähnlich wie das übrige Plasma, färbenden Gebilde im Kern betrachtet. Nach den Darstellungen Schaudinn's sind wir berechtigt, bei Eimeria schubergi das Karyosom so zu nennen. Hingegen entspricht bei Adelea zonula das Karyosom in keiner Weise der Definition. Außer Schaudinn's Beobachtung über die Entstehung des Karyosoms bei Coccidien existiert keine andere. Daher ist es nicht möglich zu entscheiden, in welcher Weise das Karyosom bei den verschiedenen Coccidien mit demjenigen von Eimeria schubergi übereinstimmt. Ich bezeichne dieses Gebilde in Übereinstimmung mit den übrigen Coccidien als Karyosom, obwohl ich den Eindruck habe, daß es diesem Begriffe nicht Genüge leisten kann. Mit einer Namenwechselung will ich nicht vorgreifen, da hierfür umfangreichere Untersuchungen notwendig wären. Außerdem behalte ich denselben Namen auch infolge seines Verhaltens bei dem Makrogametocyten, worüber ich später zu berichten habe.

Jetzt wollen wir uns dem Nukleolo-Centrosom zuwenden, das gewissermaßen die Rolle eines Centrosoms spielt. Bis jetzt ist bei den Coccidien kein Gebilde beobachtet, das eine centrosomähnliche Funktion ausführen würde. Schaudinn hat bei Eimeria schubergi und E. lacazei angegeben, daß die Geißeln der Mikrogameten von einem stärker lichtbrechenden Körnchen aus ihre Entstehung nehmen. Dieses Körnchen wird bei den übrigen Protozoengruppen (Trypano-

soma, Gameten von Gregarinen, Euglena usw.) als Blepharoplast bezeichnet und von Laveran und Mesnil als homolog dem Centrosom bei den Metazoen angesehen. Über die Bedeutung dieses Basalkörnchens bei den Coccidien sagt Schaudinn folgendes: „Da in dem ganzen Entwicklungszyklus der Coccidien überhaupt kein Centrosom auftritt, würde ich es für sehr gewagt halten, die glänzenden Körnchen an der Geißelbasis der Mikrogameten von Cyclospora caryolitica für ein Homologon des Centrosoms zu erklären. Wahrscheinlich ist die Annahme, daß dem Protoplasma überhaupt die Fähigkeit innewohnt, wo es not tut, Verdichtungen zu bilden, und daß auf diese Weise auch zur Stütze der Geißeln eine dichtere Stelle im Plasma angelegt wird.“ Inwiefern sich aber dieser Geißelansatz mit dem von mir beobachteten Nukleolo-Centrosom homologisieren läßt, ist nicht zu entscheiden. Eine Bildung von Geißeln bei Adelea zonula konnte ich nicht beobachten, um mich darüber positiv aussprechen zu können, in welcher Beziehung sie zu ihm stehen würden.

Von einer strahligen Anordnung des Plasmas bei der Kernteilung ist absolut nichts zu merken; es dient als ein Attraktionscentrum für die Chromatinkörnchen, die sich meistens sehr unregelmäßig um dasselbe herumgruppieren. Sehr oft kann man aber auch Schizonten sehen, worin sich die Chromatinkörnchen in Form von ganz kurzen Stäbchen strahlenförmig um das Nukleolo-Centrosom anordnen; aber auch dort fällt die strahlenförmige Anordnung des Plasmas aus (Fig. 13—14). Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Nukleolo-Centrosom hier einen direkten Einfluß auf die Chromatinkörnchen ausübt, der mit dem Kleinwerden dieses Organs immer mehr verschwindet, so daß wir die letzten Kernteilungen im Schizonten sehr oft auf eine direkte Weise verlaufen sehen (Fig. 11). Dieses Organ können wir als eine Chromatinmasse betrachten, die die allerniedrigsten Anfänge der einem echten Centrosom innewohnenden Eigenschaften angenommen hat.

Labbé (6) hat allerdings die schönsten Figuren von mitotischer Kernteilung bei Coccidien (Eucoccidium) gesehen und abgebildet. Siedlecki, der sich später eingehend mit denselben Parasiten der Sepia befaßt hat, stellt auf das entschiedenste das Vorhandensein von einem Centrosom bei diesen Parasiten in Abrede. Seitdem ich diese Arbeit abgeschlossen und das Manuskript zum Druck geschickt habe, befasse ich mich mit Studien über die Parasiten der Cephalopoden. Nach meinen Untersuchungen stellte es sich heraus, daß wir es hier nicht mit Coccidien, sondern mit echten Gregarinen zu tun haben, und alle Forscher haben sich über die Natur dieser Parasiten

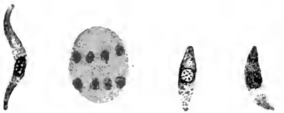
getäuscht. Es existiert überall ein sehr deutliches Centrosom, das bis jetzt übersehen wurde (Moroff, 29).[1]) Obwohl Labbé Mitose mit deutlichen Centrosomen gezeichnet hat, ist es kaum wahrscheinlich, daß er wirklich das Centrosom bei diesen Parasiten gesehen hat, denn in Wirklichkeit hat es mit seinen Bildern nichts Gemeinsames. Die allerneuesten Untersuchungen von Léger und Duboscq haben zu dem Resultate geführt, daß die Gregarinen der Cephalopoden das Geschlechtsstadium der bei den Crustaceen als Aggregata längst bekannten Gregarinen darstellen; auch mir gelang es für Aggregata (Eucoccidium) jacquemeti festzustellen, daß er seine Schizogonie in der Krabbe (Portunus corrugatus) durchmacht.

Dadurch läßt sich auch die große Zahl von Arten, die in einem und demselben Tier vorkommen, leicht erklären, z. B. aus dem Octopus allein sind mir bis jetzt 4—5 verschiedene Arten bekannt. In einem der nächsten Hefte dieser Zeitschrift werde ich ausführlich über diese interessanten Parasiten berichten.

In Präparaten, in denen eine reine Schizogonie zu beobachten ist, kann man kaum einen Unterschied zwischen den verschiedenen Schizonten machen, der auf eine geschlechtliche Differenzierung hindeuten könnte. Es sind zwar gewisse wahrnehmbare Unterschiede in bezug der Kernteilung zu konstatieren, die ich aber als individuelle Variationen betrachte, die dabei je nach den einzelnen aus verschiedenen Larven herstammenden Präparaten mehr oder minder ausgeprägt zu sein pflegen. Es scheint, daß ziemlich überall im Protozoenreich, insbesondere bei der Kernteilung, durch viele Zwischenstadien ineinander übergehende Variationen vorkommen können, die von dem Alter der Kultur, von dem umgebenden Nahrungsmittel, vielleicht auch von der Temperatur usw. beeinflußt sein werden, so daß man diese Erscheinung bei den verschiedenen Spekulationen immer in Betracht ziehen muß. Hingegen in Präparaten, in denen bereits die Makro- und Mikrogametocyten zu sehen sind, kann man mit Leichtigkeit zweierlei Arten von Meroziten auseinanderhalten. Die eine Art viel schlanker als diejenigen bei der Anfangsschizogonie, die andere viel kürzer und verhältnismäßig dicker. Die schlankeren

[1]) Die Resultate dieser Mitteilung stützen sich auf an fixiertem Material ausgeführten Beobachtungen; seitdem habe ich die Gelegenheit gehabt, frisches Material zu untersuchen. An lebenden Mikrogameten sind an ihrem vorderen Ende mit Leichtigkeit zwei verhältnismäßig kurze Geißeln zu sehen. Außerdem besitzt der Mikrogamet keinen Flossensaum, wie ich dies in meiner Mitteilung behauptete. Ebenfalls fand ich zwei andere neue Arten, bei denen es mir nicht gelang, ein Centrosom aufzufinden.

Formen, die eine Länge von 22—24 μ und eine Breite von 1,5—2,5 μ aufweisen, entwickeln sich zu Makrogametocyten. Die kürzeren Merozoiten sind im Gegensatz dazu 12—15 μ lang und 1,5—2 μ breit. In Hinsicht ihrer Kern- und Plasmastruktur ist sonst nichts auffallendes zu konstatieren. Auch in der Schizogonie selbst ist noch immer kein Unterschied durchführbar; nur bei den Schizonten, die zur Bildung von männlichen Merozoiten bestimmt sind, geht der Kern viel mehr Teilungen ein. Es werden 30—40 Tochterkerne gebildet, die sich an der Peripherie des Schizonten gewöhnlich in zwei Reihen anordnen. Die Kerne der noch nicht auseinandergegangenen Merozoiten sind meistens sehr kompakt. Erst diese Merozoiten (Fig. 16) wachsen zu 10—13 μ langen und 9—11 μ breiten Schizonten heran; ihr Kern teilt sich in 8—12 Tochterkerne,



16 17 18 19

Fig. 16. Männlicher Merozoit. Fig. 17. Schizont, der die Mikrogametocyten bildet. Fig. 18—19. Zwei freie Mikrogametocyten.

es werden auch ebensoviel Merozoiten (Fig. 17) gebildet, die zu den Mikrogametocyten heranwachsen. In den zur Bildung von weiblichen Merozoiten bestimmten Schizonten geht der Kern weniger Teilungen ein, so daß hier nur 16—24 Kerne resultieren, die sich meistens in einer Reihe in der Mitte des Schizonten anordnen; außerdem haben die Merozoiten einen tordierten Verlauf.

Bei Adelea ovata hat Siedlecki zum erstenmal einen Geschlechtsdimorphismus konstatiert, der sich während der ganzen Schizogonie zurückverfolgen läßt; die männlichen Elemente von dieser Art unterscheiden sich von den weiblichen dadurch, daß ihr Plasma feiner granuliert ist, außerdem enthalten sie eine Anzahl chromatoide Körnchen. Obwohl ich bei Adelea zonula chromatoidenkörnchenhaltende und chromatoidenkörnchenfreie Sporozoiten beobachten konnte, ist es aus Gründen, die ich bereits früher angegeben habe, kaum wahrscheinlich, daß dies etwa auf eine Geschlechtsdifferenz hindeuten würde. Bei Adelea mesnili tritt der Ge-

schlechtsunterschied erst am Ende der Schizogonie ein. Derselbe gibt sich in der Ausbildung von Merozoiten verschiedener Größe kund. Bei der Adelea dimidiata coccidioides (Duboscq et Léger, 15) gehen die bereits differenzierten männlichen Merozoiten noch eine Schizogonie ein und liefern dadurch die definitiven Mikrogametocyten, also wie bei meiner Form. Bei einer dritten Art, Adelea transita, hat Léger (10) eine ebenfalls auf geschlechtlichen Dimorphismus hindeutende Differenz zwischen den Merozoiten konstatiert, ohne jedoch genauer anzugeben, wo dieser Unterschied zuerst zutage tritt. Allenfalls scheint es, daß der Dimorphismus in der Gattung Adelea nur bei A. ovata frühzeitig auftritt und daß er bei allen übrigen untersuchten Arten erst gegen das Ende der Schizogonie zum Vorschein kommt.

Entwicklung der Mikrogameten.

Die sich normal entwickelnden Mikrogametocyten bleiben gewöhnlich nicht frei; sie treten, kurz nachdem sie sich vom Schizonten losgelöst haben, in Verbindung mit dem Makrogametocyten und machen so ihre ganze Entwicklung durch. Der Mikrogametocyt wächst gewöhnlich nicht oder nur sehr unbeträchtlich, so daß er in seinem erwachsenen Zustande kaum die Größe des freien männlichen Merozoit überschreitet. Ebenso erleidet sein Plasma keine nennenswerten Umwandlungen, es bleibt fein alveolär bis granuliert, hier und da treten chromatoide Körnchen auf. Es ist der Kern, der die meisten Umwandlungen erfährt; bereits während der Wanderung des männlichen Schizonten zum Makrogametocyten tritt im ersteren das Karyosom auf, und zwar nach meinen Beobachtungen auf dieselbe Weise wie bei der Schizogonie. Nach der Verbindung des Mikrogametocyten mit dem weiblichen Schizont zeigt der Kern zuerst dieselbe Struktur wie während der Schizogonie, während der weiteren Entwicklung zeichnet er sich jedoch durch seinen Reichtum an Chromatin aus. Auch hier teilt sich das Nukleolo-Centrosom in zwei Stücke, die als Attraktionszentren für die Chromatinkörnchen bei der Teilung des Kerns dienen. Das Karyosom wird entweder vor oder während der Teilung aus dem Kern ausgestoßen. Bei der wiederholten Teilung der Tochterkerne kann man sehr oft das Nukleolo-Centrosom noch immer sehen. Nachdem sich so der Kern in vier geteilt hat, verdichtet sich das Chromatin jedes Tochterkerns sehr stark und nimmt, sich zum Mikrogameten ausbildend, eine sehr schlanke Gestalt an.

Eine andere, zuerst von Pérez (19) signalisierte Erscheinung ist auch bei den Mikrogametocyten von Adelea zonula sehr verbreitet: das ist die Vereinigung von zwei Mikrogametocyten miteinander. Wie es scheint, sind sie jedoch bei A. mesnili eine gewöhnliche (normale) Erscheinung. Bei meiner Form zeigen sie hingegen entschieden pathologische Charaktere. Erstens haben wir sie in sehr großer Menge in Larven beobachtet, die sehr stark infiziert waren. Es macht mir den Eindruck, daß diese enorme Infektion durch eine übermäßig starke Schizogonie (Vermehrung) der Parasiten hervorgerufen wird. Die Folge davon ist eine ausgesprochene Degeneration einer großen Menge von Parasiten. Sie verlieren außerdem die Fähigkeit, das Verhältnis zwischen Kern und Plasma zu regulieren, so daß wir schließlich winzig kleine Mikrogametocyten bekommen, deren Kerne hingegen sehr groß sind. Dieselben bleiben entweder frei und sterben ab, nachdem sich ihr Kern einmal geteilt hat (sofern er dies überhaupt tut), oder aber sie verbinden sich miteinander, dann machen sie immer eine Kernteilung durch (Fig. 20a—d). Ich habe jedoch weder eine wiederholte Teilung des Kerns noch eine Ausbildung von Mikrogameten



20a 20b 20c 20d

Fig. 20a—d. Freie und miteinander verbundene Mikrogametocyten, verschiedene Stadien der Kernteilung aufweisend. 1500:1.

beobachtet. Einmal habe ich auch eine direkte Zweiteilung bei so degenerierenden Mikrogametocyten gesehen; auch Labbé hat über eine direkte Zweiteilung bei Coccidien berichtet; vielleicht handelte es sich auch dort um degenerierende Parasiten. Diese winzigen Mikrogametocyten haben meistens eine Größe von 2—4 μ, von denen in extremen Fällen fast die Hälfte chromatische Substanz ist. Von den bis jetzt genauer studierten Formen tritt diese merkwürdige Erscheinung nur noch bei A. mesnili ein, wo sie zum erstenmal beobachtet wurde, nur daß sie hier insofern ihren pathologischen Charakter weniger zur Schau bringt, als sich die miteinander vereinigten Mikrogametocyten völlig normal zu entwickeln und Mikrogameten zu bilden imstande sind. Für Adelea ovata

sagt Siedlecki nichts darüber, hingegen erwähnt Léger ausdrücklich für Adelea transita, daß er die von Perez beobachtete Vereinigung zweier männlicher Merozoiten nicht konstatieren kann.

Diese durch enorme Vermehrung verursachte Degeneration erstreckt sich nicht allein auf die männlichen Elemente, sondern es werden auch die Makrogametocyten von ihr betroffen; hier tritt sie aber in einer anderen Form auf. Solche anormale weibliche Merozoiten erreichen eine riesige Größe, sie sind bis zu 30 μ lang und 2–2.5 μ breit, so daß sie wie ein Faden aussehen. Auch der Kern sieht nicht normal aus, sein Chromatin tritt in mehr oder minder langen, durcheinander gewundenen Fäden auf. Eine deutliche Abgrenzung des Kerns von dem übrigen Plasma ist nicht zu sehen. Bei dem weiteren Wachstum erreichen solche Makrogametocyten eine auffallende Größe, bis zu 40 μ. Der Kern bleibt jedoch im Gegensatz dazu ziemlich klein. Hier erscheint er in der Form einer hellen Blase, worin meistens außer dem großen Karyosom und Nukleolo-Centrosom entweder sehr wenig oder gar keine Chromatinkörnchen zu sehen sind. Je nach dem Grade ihrer Degeneration machen sie eine mehr oder weniger vollkommene Entwicklung durch, worauf sie absterben.

Die vollkommen ausgebildeten Mikrogameten nehmen eine sehr schlanke Form an, sie sind 8—11 μ lang; ihr Vorderende ist kurz zugespitzt, das hintere verjüngt sich hingegen sehr allmählich. Von allen bis jetzt bekannten Adeleaarten sind sie die längsten.

Die Entwicklung der Makrogametocyten.

Zuerst unterscheiden sich die Makrogameten von den Mikrogametocyten nur durch ihre Größe und von den Schizonten kaum (Fig. 21). Erst im Laufe ihrer Entwicklung treten die ihnen eigentümlichen Charaktere auf, die eine sichere Unterscheidung von den letzteren ermöglichen. In die Wirtszelle eingedrungen, behalten sie ihre längliche Form; es findet ein starkes Wachstum in der Breite statt, so daß sie bald die Form eines kurzen dicken Rotationsellipsoids annehmen. In den früheren Stadien zeigen die Mikrogameten eine gekrümmte oder bohnenförmige Gestalt, später rundet sich aber ihre Oberfläche überall ab. Wie bei den anderen Coccidien so auch hier, beginnt, kurz nachdem der weibliche Schizont in eine Wirtszelle eingewandert ist, die Bildung von jenen eigentümlichen, stark glänzenden kugeligen Gebilden, die von den früheren Coccidienforschern als Reservestoffe erkannt wurden. Über ihre chemische

Zusammensetzung ist nichts Näheres bekannt; ob sie bei allen Repräsentanten der Coccidien gleich ist, ist ebenfalls nicht zu entscheiden. Bei A. zonula zeichnen sie sich dadurch aus, daß sie durch Osmiumsäure schwarz gefärbt werden, was auf einen fettartigen Charakter hindeuten würde; sie sind bis 2 μ groß.

Die Struktur des Plasmas im Gegensatz zu den Schizonten und Mikrogametocyten, wo es sehr fein alveolär bleibt, wird im Laufe des Wachstums immer mehr grob alveolär, so daß die ausgebildeten Makrogameten bereits einen Alveolendurchmesser von 1—2 μ aufweisen. Auch hier nehmen die Alveolen vom Centrum zur Peripherie an Weite zu. Das Plasma nimmt gleichfalls immer mehr an Färbbarkeit zu; bei den ausgewachsenen Makrogameten ist sie am stärksten; dieselbe wird, wie es scheint, durch die Bildung einer besonderen schleimigen Substanz hervorgerufen, die eine beträchtliche Neigung zu den verschiedenen Farbstoffen, insbesondere zum Hämatoxylin, aufweist. Diese schleimige Substanz ist meistens gleichmäßig durch das ganze Plasma verteilt, nicht selten jedoch — es macht mir den Eindruck, als ob dies bei den krankhaft aussehenden Makrogameten der Fall ist — ist sie an einzelnen Stellen lokalisiert, entweder in der Mitte, nicht weit vom Kern, in Form eines unregelmäßigen, stärker gefärbten Fleckes, oder in mehrere unregelmäßige Stücke zerfallen, meistens an der Peripherie des Parasiten zerstreut. Die Menge dieser Bildungen ist bei den einzelnen Individuen starken Schwankungen unterworfen. Oft trifft man Makrogameten, deren Plasma sehr zart und gleichmäßig gefärbt ist, daneben aber auch solche, die sehr tief gefärbt sind. Etwas Sicheres über die Natur dieser Bildnng läßt sich nicht aussagen; eine Annahme jedoch, daß wir es hier mit Stoffwechselprodukten zu tun haben, hat sehr viel wahrscheinliches für sich. Zu erwähnen ist nur noch, daß sie eine Tendenz zeigt, sich in der Nähe des Kerns in stärkerem Grade anzusammeln. Nach der Bildung der Sporocysten geht je eine Partie von ihr in dieselben über.

Sehr beträchtlich sind die sich am Kerne während des Wachstums und der Reifung des Makrogameten abspielenden Prozesse. Der längliche, aus vielen Chromatinkörnchen bestehende Schizontenkern rundet sich bald nach dem Eindringen des Schizonten in eine neue Wirtszelle etwas mehr ab. Das Karyosom bildet sich auch hier auf dieselbe Weise wie bei der Schizogonie (Fig. 22a); das Nukleolo-Centrosom tritt ebenfalls sehr deutlich hervor und behält die Stellung, die es während der Schizogonie hatte, bei. Es zeichnet sich aber hier dadurch aus, daß es an Umfang beträchtlich zunimmt,

meistens eine halbmondförmige Gestalt aufweisend, mit der konkaven Seite dem Karyosom zugewendet (Fig. 22b—23). Das letztere wächst sehr stark, so daß es manchmal die Hälfte vom Kern ausfüllt; dementsprechend wächst auch das Nukleolo-Centrosom, so daß wir schließlich einen Kern bekommen, der wie mit zwei Karyosomen versehen aussieht, was auch Léger und Duboscq (15), die die Entwicklung



Fig. 21. Weiblicher Merozoit von Ad. zonula. Fig. 22a—b u. 23. Junge Makrogametocyten. Fig. 22a. Das Karyosom noch außerhalb des Kerns.

von Adelea dimidiata coccidioides nur kurz studiert haben, veranlaßt hatte, diese zwei Gebilde als Haupt- und Nebenkaryosom zu bezeichnen; sehr oft machen diese zwei Karyosomen fast ganz den Kern aus, da sich die Chromatinkörnchen dann als eine dünne Schicht um dieselben präsentieren. Auch hier rücken, wie bei Adelea dimidiata coccidioides, diese beiden Gebilde manchmal sehr weit auseinander und täuschen so zwei Kerne vor (Fig. 23). In einigen alten Präparaten, die mir Herr Prof. Léger auf die liebenswürdigste Weise zur Verfügung stellte, weist auch der Kern von A. dimidiata ganz dieselben Kernverhältnisse bei den Makrogameten auf. Die Schizogonie war in diesen Präparaten ganz abgelaufen, so daß ich die Kernverhältnisse während dieser Entwicklungsperiode leider nicht verfolgen konnte. Wie es scheint, kommen in Scolopendra singulata Newp. zwei verschiedene Arten von der Gattung Adelea vor, da die Makrogameten von zwei Präparaten dieselben Kernverhältnisse wie bei meiner Form aufwiesen; die übrigen zwei Präparate enthielten hingegen Makrogameten, deren Kernverhältnisse sich an denjenigen von Adelea mesnili näherten.

Gleichzeitig mit dem Wachstum des Karyosoms beginnt eine Verkleinerung der Chromatinkörnchen im Kern, während der Reifung geht jedoch diese Erscheinung so weit, daß man schließlich keine Chromatinkörnchen mehr zu sehen bekommt. Wenn der Makrogamet sich seiner definitiven Größe naht, beginnt sein bis jetzt eine centrale Stellung einnehmender Kern zum einen Pol zu wandern, und so langt er nahe der Oberfläche an (Taf. II Fig. 1). Jetzt fangen die Reifungserscheinungen an. Bei diesem Prozesse lösen sich alle Chromatinkörnchen des Kerns vollkommen auf, gleichzeitig verliert der letztere seine runde Gestalt, indem er nach allen Richtungen Fortsätze aussendet, so daß er wie bei A. mesnili und transita eine sternförmige Gestalt annimmt (Fig. 2). Gleichzeitig damit findet eine starke Reduktion des Karyosoms und des Nukleolo-centrosoms statt. Das erstere verliert zuerst sehr viel am Umfang; da ich aber niemals eine Teilung bei ihm, oder auf Sprossung hindeutende Unregelmäßigkeit auf seiner Oberfläche beobachtet habe, ist es sehr wahrscheinlich, daß dessen Verringerung durch Abgabe chromatischer Substanz in gelöstem Zustande vor sich geht. Nach der Reduktion ist das Karyosom 2—4mal kleiner als zuerst, was man beim Vergleich von Fig. 23 und Taf. II Fig. 1 sofort ersieht. An Färbbarkeit büßt es jedoch um diese Zeit nicht im geringsten ein.

Das Nukleolo-Centrosom verringert sich ebenfalls durch Rückgabe von Chromatin in gelöstem Zustande an den Kern, so daß es am Ende dieses Prozesses 2—3mal kleiner als zuerst geworden ist (Taf. II Fig. 1). Von diesem Stadium ab differieren diese beiden Gebilde hinsichtlich ihres weiteren Schicksals. Das Nukleolo-Centrosom teilt sich um diese Zeit, oder etwas später, in zwei meistens gleiche, jedoch nicht selten an Größe ein wenig voneinander abweichende Stücke. Hingegen setzt sich die Auswanderung des Chromatins aus dem Karyosom noch weiter fort. Zuerst treten einige Vakuolen in ihm auf (Taf. II Fig. 2), dann bildet sich in dessen Mitte eine hellere Stelle aus, die an Größe immer mehr zunimmt und sich schließlich soweit ausdehnt, daß das Chromatin in Form einer ganz dünnen Schicht auf der Oberfläche des Karyosoms verteilt zu sehen ist. Sein optischer Schnitt stellt einen dünnen Ring dar (Taf. II Fig. 3). Nachdem alles Chromatin ausgewandert ist, wird der ganz blasse Überrest des Karyosoms aus dem Kern in das Plasma ausgestoßen. Dadurch ist die Reifung des Makrogameten abgeschlossen. Das Merkwürdige hierbei ist, daß, obwohl die ganze chromatische Substanz vom Karyosom und ein Teil vom Nukleolo-Centrosom in den Kern überwandert, er an Färbbarkeit doch nicht zunimmt, im Gegenteil sich

eine Zeitlang so schwach färbt, daß man ihn nur mit Mühe finden kann.

Es ist wohl naheliegend, daß hier eine große Partie der chromatischen Substanz ins Plasma übertritt, da das letztere besonders an Färbbarkeit zunimmt. Wenn man nun in Betracht zieht, welch großer Unterschied existiert zwischen dem Kopulationskern und der chromatischen Masse, die die Kerne der in einer Oocyste enthaltenen Sporozoiten ausmachen (vgl. Fig. 6 u. 8), liegt die Vermutung nahe, daß der Kopulationskern während seiner ganzen Teilung ständig an Größe zunimmt. Wie es scheint, macht er vor jeder neuen Teilung eine kurze Ruhepause durch, während der er zu seiner Anfangsgröße heranwächst. Das ins Plasma bei der Reifung des Makrogameten aus dem Kern übergetretene Chromatin könnte also hier wieder eine Verwendung finden; durch sein Vorhandensein im vorgebildeten Zustande könnte er ja sogar das Heranwachsen der Tochterkerne beschleunigen.

Nach Léger und Duboscq (15) verschwindet das zweite halbmondförmige Karyosom (nach mir das Nukleolo-Centrosom) bei Adelea dimidiata coccidioides vollkommen, indessen erscheinen hinter dem inzwischen polär gerückten Kerne einige sich stärker färbende Flecke, die diese Autoren als aus dem Kern herausgestoßene Chromatinmasse ansehen. Nach meinen Beobachtungen trifft das bei A. zonula nicht zu; hier erscheint der Fleck unabhängig und vor der Reifung des Kerns; und dann verschwindet nicht das Nukleolo-Centrosom, sondern das Karyosom (nach meiner Terminologie).

In mit der dreifachen Färbung nach Heidenhain (Safranin, Gentian, Orange) angefertigten Präparaten sind in dem Makrogameten kleine bis 0.5—1 μ lange stäbchenförmige Gebilde zu sehen, die sich durch ihre tief violette Färbung auszeichnen. Sie sind überall in dem Plasma verteilt, und zwar sind sie in den Alveolenwänden suspendiert. In den ganz jungen Makrogameten sind sie nicht zu sehen. Sie treten erst in den halberwachsenen Makrogameten auf, zuerst als ganz dünne kurze, verhältnismäßig schwach färbbare Stäbchen, die mit dem Heranwachsen des Parasiten sowohl an Größe als auch an Zahl beträchtlich zunehmen. Manchmal besteht das Stäbchen aus 2—3 stärker gefärbten Punkten, die miteinander durch eine etwas schwächer gefärbte Substanz verbunden sind (Taf. II Fig. 4). Oft sind sie in der Nähe des Kerns etwas stärker angesammelt als an der Peripherie. Merkwürdig ist, daß sie sich mit einem anderen Farbstoff nicht färben lassen, nicht einmal mit Eisenhämalaun. Nach der Befruchtung des Makrogameten

und der Ausbildung der Sporocysten sind sie noch immer gleichmäßig in dem Plasma verteilt. Über ihre Natur kann ich leider nichts Positives angeben. Sie sehen so bakterienähnlich aus, daß man unwillkürlich an diese denken muß. Wenn wir es jedoch in diesem Falle mit Bakterien zu tun hätten, dann drängt sich von selbst die Frage auf, warum befallen sie nur die Makrogameten, und dies nicht gleich von ihrer Jugend an, sondern erst in ihren fortgeschrittenen Stadien? Gegen ihre Bakteriennatur spricht der Umstand, daß sie an Dicke um das 3—4 fache differieren, insbesondere wenn der Makrogamet etwas krankhaft aussieht, dann sind sie sehr dick und etwas länger, dafür aber weit weniger an Zahl. Außerdem macht es bei flüchtiger Betrachtung noch den Eindruck, als ob ihre Menge und Stärke im Zusammenhang mit der Färbbarkeit des Karyosoms stünde; im Plasma sind sie nämlich in größter Menge dann zu sehen, wenn das Karyosom ziemlich verblaßt ist.

Durch diese Färbungsmethode nimmt das Karyosom in mittelerwachsenen Makrogameten eine tief rötlich-violette Farbe an; das Nukleolo-Centrosom färbt sich hingegen viel hellrötlicher und schwächer, manchmal ist es ganz blaß. Die Chromatinkörnchen nehmen eine violette Farbe an, bei stärkerer Differenzierung werden sie jedoch leicht entfärbt.

Zuerst nimmt also das Karyosom eine tiefe rötlich-violette kompakte Farbe an (Taf. II Fig. 4). Während des weiteren Wachstums des Makrogameten sieht man jedoch, daß es allmählich lichter wird; und zwar sieht man, wie dieser Prozeß, an der Peripherie beginnend, langsam zum Centrum fortschreitet. Es entsteht an der Peripherie zuerst ein heller, rot-violetter, die innere dunkle Partie einschließender Ring, der immer breiter wird; gleichzeitig zeigen sich in der mittleren Partie selbst einige hellere Stellen. Allmählich ist immer deutlicher wahrzunehmen, daß diese sich zuerst tief rötlich-violett färbende kompakte Masse aus lauter kleinen, tief rötlich-violetten Körnchen besteht, die während des weiteren Wachstums des Makrogameten an Zahl immer weniger werden (Taf. 2 Fig. 5). Schließlich sieht man Parasiten, deren Karyosom nur einige solche Körnchen aufweist, die jedoch bis auf eines bald verschwinden. Das übriggebliebene, sich durch seine Größe auszeichnende Körnchen bleibt noch längere Zeit bestehen, eine centrale oder schwach exzentrische Lage einnehmend. Schließlich verschwindet auch dieses, und das Karyosom ist jetzt überall durch eine hellrote Farbe mit violetter Nuance koloriert. Das Auswandern dieser Körnchen selbst habe ich nicht beobachten können, daher kann ich mich darüber nicht aus-

sprechen, ob sie in gelöstem Zustande oder als ganzes Gebilde das Karyosom verlassen.

Es ist jedoch kaum anzunehmen, daß die um diese Zeit im Plasma zerstreuten stäbchenförmige Gebilde die ausgewanderten Körnchen des Karyosoms darstellen, viel wahrscheinlicher ist es, daß ihr Auftreten im Plasma und das Verblassen des Karyosoms zwei unabhängig nebeneinander verlaufende Erscheinungen sind.

Mit den bereits von Schaudinn bei Eimeria schubergi signalisierten eigentümlichen Körnchen, die sich durch ihre Färbbarkeit mit Hämatoxylin und besonders mit Eisenhämalaun (Heidenhain) auszeichnen, werden sie wohl nicht viel gemeinsames haben, da sie sich durch keine von diesen Färbungsmethoden aufdecken lassen.

Es wäre wohl möglich, daß diese Körnchen bei der Verarbeitung der Reservestoffkörnchen eine vermittelnde Rolle spielen, dann würden wir es also mit einem enzymenähnlichen Gebilde zu tun haben.

Befruchtung und Bildung der Sporocysten.

In den meisten Fällen, wenn der Makrogamet seine Reifungsprozesse abgeschlossen hat, sind auch die Mikrogameten ausgebildet und im Begriff, sich von dem Restkörper loszulösen. Wie es scheint, scheidet der Makrogamet auch hier, wie bei den anderen Coccidien, eine auf die Mikrogameten orientierend wirkende Substanz aus, denn man sieht, daß sich bald zwei, manchmal drei Mikrogameten direkt an die Stelle gesetzt haben, wo der weibliche Kern die Oberfläche berührt. Diese Berührung der Mikrogameten mit dem weiblichen Kern genügt, wie es scheint, um die Ausscheidung der Oocystenhülle herbeizuführen, denn dieselbe wird sogleich ausgeschieden, ohne die engere Verschmelzung der beiden Kerne abzuwarten; bald wird sie auch so dick, daß man nur mit größter Mühe das Plasma und die Kerne färben kann. Manchmal habe ich die Ausstrichpräparate vier Wochen in Hämatoxylin stehen lassen müssen, bis sie sich gut gefärbt hatten.

An der Stelle, wo der weibliche Kern an die Oberfläche anstößt, sieht man regelmäßig zuerst zwei Chromatinhaufen, die ich im Anfang als von einem Mikrogamet durch Zerfall entstanden ansah (Taf. 2 Fig. 3). Die genaue Beobachtung und das regelmäßige Auftreten dieser Erscheinung haben mich jedoch zur Überzeugung geführt, daß wir es hier mit zwei Mikrogameten zu tun haben. So sehr ich mir Mühe gab, habe ich das weitere Schicksal dieser zwei Mikrogameten nicht feststellen können. Findet eine direkte Ver-

einigung der beiden Mikrogameten mit dem weiblichen Kern statt, oder aber verschmilzt bei dem engeren Geschlechtsakt nur ein Mikrogamet mit dem weiblichen Kern? An Makrogameten, wo die Vereinigung der beiden Kerne sich bereits vollzogen hatte, hat man an der betreffenden Stelle der Oberfläche keinen Chromatinhaufen sehen können, der als der eine von den zwei Mikrogameten angesehen werden könnte.

Ob wir diese Erscheinung als einen Zufall ansehen oder ihr eine größere Bedeutung beimessen müssen, darüber kann ich mich nicht aussprechen. Jedenfalls ist es der Erwähnung wert, daß genau dieselbe Erscheinung auch bei Adelea dimidiata zu beobachten ist, wo die Kernverhältnisse, wie ich bereits auseinandersetzte, übereinstimmend mit A. zonula sind. Nebenbei bemerkt, befinden sich die Mikrogameten bei den beiden Arten innerhalb der bereits ausgeschiedenen Oocystenhülle.

Es findet eine Vereinigung nur von einem Mikrogametocyten mit einem Makrogamet statt. Mehr als einen Mikrogametocyten habe ich nicht beobachtet, hingegen sieht man bei den Makrogameten von A. dimidiata regelmäßig deren zwei. Sehr oft vollzieht der Makrogamet weit früher seine Reifungsprozesse als der Mikrogametocyt, dann wird er durch Eindringlinge aus der Nachbarschaft befruchtet. Nicht selten sieht man einen Makrogamet, der von 7—8 vollkommen ausgebildeten Mikrogameten umlagert ist. Manchmal bemerkt man auch sehr früh abgestorbene Mikrogametocyten, durch die sich aber der Makrogamet in seier Entwicklung in keiner Weise stören läßt; er macht alle Reifungserscheinungen durch. Dasselbe kommt auch umgekehrt vor, wo die weibliche Zelle frühzeitig abstirbt und die männliche sich normal entwickelt.

Die Verschmelzung des männlichen und weiblichen Kerns und die Bildung der ersten und der folgenden Spindeln geht, wie es scheint, sehr rasch vor sich, so daß es äußerst schwierig ist, die nötigen Stadien zu finden. Man könnte sogar meinen, daß überhaupt keine Teilung des Kerns stattfindet, sondern daß er sich vollkommen auflöst, sich nachher von neuem an vielen Stellen kondensiert, um so die Kerne der Sporozoiten zu bilden. Die ersten und folgenden Teilungen des Kerns habe ich, wenn auch sehr selten, doch sehr gut beobachten können.

Mit dem Eindringen des Mikrogameten streckt sich der weibliche Kern sehr weit in die Länge und reicht jetzt mit dem einen Ende bis zum anderen Pol. Allmählich lockert sich auch der männliche Kern; indem er sich gleichzeitig auch in die Länge streckt,

sieht er jetzt als eine direkte Fortsetznng des weiblichen Kerns aus, so daß nun alle zwei zusammen eine aus mehreren Chromatinstreifen bestehende Spindel bilden, die mit ihren zwei Enden bis zu den beiden Polen des Oocyten reicht (Taf. II Fig. 6). Aus den vollkommen reifen Makrogameten her kennen wir in dem weiblichen Kern zwei durch Teilung des Nukleolo-Centrosoms entstandene Chromatinkörnchen, die wir anch in der Spindel jetzt unverändert wieder antreffen. Das eine nimmt den einen Pol ein, das andere befindet sich ziemlich in der Mitte der Spindel. Ich glaube mit ziemlicher Sicherheit vermuten zu dürfen, daß das mittlere Körnchen die Grenze zwischen männlichem und weiblichem Kern bildet. Die zwischen den beiden Körnchen eingeschlossene Partie ist der weibliche Kern; der sich außerhalb vom mittleren Körnchen befindende Spindelteil hingegen stellt den männlichen Kern dar. Dieses in Fig. 6 Taf. II abgebildete Stadium ist nicht selten anzutreffen, woraus man wohl schließen darf, daß der Oocyt in diesem Zustande längere Zeit verbleibt. Hingegen ist es sehr schwer, die nächstfolgenden Stadien zu finden, daher habe ich das Schicksal der beiden Nukleolo-Centrosomen leider nicht mehr weiter verfolgen können.

Bei der Teilnng des Kerns bewahrt jetzt das Chromatin eine ziemlich kompakte Form, das Verbindungsstück wird sehr lang ausgezogen. Bei A. ovata wird bei der Teilung ein Zwischenkörper gebildet; in Übereinstimmnng mit Eimeria schubergi (Schaudinn) habe ich hier ein ähnliches Gebilde nicht beobachten können.

Die Tochterkerne rücken gewöhnlich an die Oberfläche des Oocyten und verteilen sich dort in ziemlich gleichen Abständen voneinander. Bei der letzten, die Sporozoitenkerne resultierenden Teilung kann man eine ganz schwache Differenz in bezug der Zeit, während der sich dieser Teilungsprozeß abspielt, konstatieren; wir sehen manche Kerne, die die Teilung bereits abgeschlossen haben, neben anderen, die eben noch im Begriff sind, sie zu vollziehen (Taf. II Fig. 7). Sowie sich einige Sporozoitenkerne gebildet haben, treten sie in Fnnktion, ohne Rücksicht auf die anderen zu nehmen. Ein Kern übt wohl einen gewissen Einfluß auf das Plasma aus, denn wir sehen unmittelbar nach der Teilung, wie sich eine Partie von dem letzteren durch eine schwache Wand um ihn herum absondert und so den runden Sporozoit bildet. Wir bekamen oft Oocysten zu sehen, worin an einer Stelle die Sporozoiten bereits ausgebildet sind, während an anderen die Kerne noch in Teilung begriffen sind (Taf. II Fig. 7). In Übereinstimmung mit den neueren Coccidien-

forschern ist dieser Prozeß als Teilung, nicht als Sprossung zu bezeichnen.

Bei Eimeria schubergi, lacazei, subepithelialis usw. schreitet das Plasma erst dann zur Sporulation, nachdem sich alle Sporozoitenkerne gebildet haben. Es stellt sich eine bei den erstgenannten zwei Arten 2—3 Stunden dauernde amöboide Bewegung ein, der nach langen Anstrengungen die Furchung des Plasmas durchzuführen gelingt.

Nachdem sich die Sporocysten gebildet haben, schreiten ihre Kerne zur Teilung. Sie bleiben jedoch nicht in deren Mitte, sondern rücken bis an die Oberfläche der Sporocysten, wo sie eine lang ausgezogene Spindel bilden; gleichzeitig krümmen sie sich parallel zur Sporocystenwand (Taf. II Fig. 8). Im Gegensatz zu den vorhergehenden Teilungen habe ich hier einen Zwischenkörper beobachten können.

Bevor der Sporocystenkern eine Teilung eingeht, wird er wohl eine längere Ruhepause durchmachen, während welcher Zeit er an Größe zunimmt. Denn wenn wir Fig. 7 und 8 miteinander vergleichen, so springt es gleich in die Augen, welche große Differenz zwischen den einzelnen Kernen existiert. Obwohl der eine lockerer gefügt ist, enthält er mehr Chromatinsubstanz als der andere.

Die Bildung der Sporozoiten erfolgt auf eine eigentümliche Weise. Das Plasma zerfällt nämlich nicht in zwei Portionen mit einem Restkörper, sondern es macht den Eindruck, als ob um jeden Sporozoitenkern eine kleine Partie vom Plasma sich abgrenzt, die ringsherum von den Reservestoffkörnchen umlagert ist. Anfangs stellt es ein kurzes abgeflachtes, 6—8 μ langes Gebilde dar (Fig. 24), das allmählich zum ausgebildeten Sporozoiten heranwächst. Zugunsten dieser Ansicht spricht der Umstand, daß die im Anfang sehr zahlreichen Reservestoffkörnchen sowohl an Größe als auch an Zahl stark abnehmen; solange die Sporozoiten noch klein sind, liegen sie entweder parallel nebeneinander oder kreuzweise übereinander (Fig. 24); später, wenn sie vollkommen ausgebildet sind, sind sie miteinander verflochten. Die reifen Sporocysten werden an den

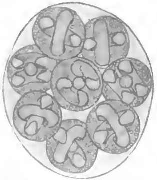


Fig. 24. Eine Oocyste mit jungen Sporozoiten. Nach dem Leben gezeichnet. 1000 : 1.

wenigen kleinen Reservestoffkörnchen, die sie einschließen, erkannt. In dieser Beziehung unterscheidet sich unsere Art von den anderen genau studierten Adeleaformen. Bei Adelea ovata und A. mesnili wird neben den zwei noch von Anfang an definitiv angelegten Sporozoiten auch ein großer Restkörper gebildet; ihr Kern befindet sich im Anfang am Ende der Sporozoiten, bald rückt er jedoch bei A. ovata in deren Mitte vor; wie er sich auch bei der zweiten Art verhält, berichtet uns Perez nicht. Aus den Zeichnungen, die Siedlecki und Perez für die beiden Arten angefertigt haben, ist nicht zu ersehen, ob die Sporozoiten rund oder flach zusammengedrückt sind, viel eher ist anzunehmen, daß sie rund sind. Aus den Zeichnungen von A. Schneider (25) ist bei Adelea dimidiata und A. simplex sehr klar ihre zusammengedrückte Gestalt gleich zu ersehen, insbesondere sind die Sporozoiten bei der letztgenannten Art sehr breit. Ebenfalls ist aus denselben Zeichnungen sehr deutlich zu entnehmen, daß die Sporozoiten ganz auf dieselbe Weise wie bei meiner Art angelegt werden; es wird kein einheitlicher großer Restkörper gebildet, sondern es sind die neugebildeten Sporozoiten von einer großen Menge Reservestoffkörnchen umgeben.

Aus der Entwicklung von Adelea zonula können wir mit Recht schließen, daß sie von allen bekannten Coccidien die primitivsten Charaktere bewahrt hat. Das lange Verbleiben der Sporozoiten in dem Darm, ihre zuerst halb amöboide Form und Bewegung und die Endstellung der Kerne sind sicher viel primitivere Charaktere, die vielleicht allen Coccidien zuerst eigen gewesen sind. Denn nach den bereits erwähnten Zeichnungen Schneider's (25) existieren genau dieselben Verhältnisse auch bei A. dimidiata und A. simplex; bei A. ovata wird der Kern am Ende des Sporozoiten angelegt, rückt jedoch kurz darauf in dessen Mitte; hier steht der Parasit insofern höher, als die Metamorphose sehr schnell vor sich geht, und zwar solange die Sporozoiten noch in der Sporocyste sind. Bei A. mesnili berichtet uns Perez leider nicht, wie sich der Kern der Sporozoiten weiter verhält, ich bin jedoch der Ansicht, daß diese Art die primitiven Charaktere länger aufbewahrt als A. ovata. Erst nach der Metamorphose nehmen die Sporozoiten von A. zonula die uns von den anderen Coccidien her bekannte Form an.

Pathologie und natürliche Infektion.

Diese Adeleaart befällt nur die Fettkörper von Blaps mortisaga, denn ich habe sie niemals in den angrenzenden Organen be-

obachtet. Wie es scheint, verursacht sie ihrem Wirt keinen unmittelbaren Schaden, da die Fettkörper als Reservenahrungsstoff in dem aktuellen Lebensprozesse der Larve außer Funktion stehen. Eine von einem Parasiten befallene Fettzelle sieht normal aus, d. h. es ist keine Entzündung daran zu konstatieren; manchmal habe ich 10—15 Parasiten in einer einzigen Zelle gesehen, dieselbe sah aber trotzdem normal aus. Nach dem Auswandern des Parasiten aus einer Fettzelle verhält sich letztere normal, d. h. sie wächst auch weiter, ohne daß man an ihr merken kann, daß sie einmal von Parasiten befallen war. Anders verhalten sich die Muskel- und Bindegewebszellen: wenn hierin einmal ein Schizont eingedrungen ist, geraten sie durch Entzündung alsbald in Wucherung, sie fangen an sich rasch zu vermehren, von allen Seiten wird der Parasit von jungen Muskelzellen umwachsen und so zum Absterben gebracht, er wird geradezu erstickt. Die toten Parasiten scheiden zuerst eine gelbe Hülle aus, später wird jedoch ihr ganzes Plasma gelb bis braun, woran man sogleich die abgestorbenen Parasiten erkennt.

Über die natürliche Infizierung dieser Parasiten kann ich nur soviel berichten, daß sie wohl in der Weise vor sich geht, daß die Larven die aus ihren toten Genossen herstammenden, mit der Nahrung vermischten Cysten verzehren.

Es ist leicht möglich, daß die aus verschiedenen Lokalitäten herstammenden Larven nicht in gleicher Weise dem Parasiten zugänglich sind. Es ist wohl denkbar, daß die aus dem eingangs erwähnten zweiten Glase stammenden Larven gegen A. zonula bis zum gewissen Grade immunisiert waren, wodurch sich auch das Mißlingen der versuchten Infektion erklären ließe. Leider habe ich nicht mit der nötigen Sicherheit ein Degenerieren der Sporozoiten in der Darmwand konstatieren können, das in einem solchen Falle wohl zu erwarten sein dürfte.

In Anbetracht der geringen Anzahl von erwachsenen Blapsen, die mir aus der infizierten Kultur zur Verfügung standen, habe ich nur einige Stücke geöffnet, die sich jedoch parasitenfrei erwiesen; daher kann ich mich nicht positiv aussprechen, ob dieselben überhaupt immun sind oder nicht. Es wurden auch zwei erwachsene Blapse infiziert; die Cysten haben jedoch den Darm passiert, ohne sich dabei zu öffnen.

Literaturverzeichnis.

1) Berndt, A.: Beitrag znr Kenntnis der im Darm der Larve von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. I 1902.

2) Goldschmidt, R.: Die Chromidien der Protozoen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. V 1904.

3) —: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. in: Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. d. Tiere Bd. XXI 1904.

4) Hertwig, R.: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1900 Heft 1.

5) —: Die Protozoen und die Zelltheorie. in: Arch. f. Protistenk. T. 1.

6) Labbé: Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies. in: Arch. Zool. expér. V. 4 1896.

7) —: Sporozoi. in: Das Tierreich, eine Zusammenstellung und Kennzeichnung der rezenten Tierformen. Berlin 1899 Lief. 5.

8) Léger, L.: Essai sur la classification des coccidies et description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. in: Bulletin du Museum de Marseille T. I 1898.

9) —: Sur la présence d'une Coccidie coelomiques chez Olocrates abbréviatus Ol. in: Arch. Zool. expér. 1900 Notes et Revue Nr. 1—2.

10) —: Sporozoaires parasites de l'Embia solieri Rambur. in: Arch. f. Protistenk. Bd. III 1904.

11) —: La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. in: Ibid. Bd. III 1904.

12) Léger et Duboscq, O.: Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les trachéates. in: Arch. de Parasitologie T. 6 1902.

13) —: Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des trachéates. in: Arch. f. Protistenk. Bd. IV 1904.

14) —: Notes sur les Myriapodes de corse et leurs parasites. in: Comp. rend. de l'association Française pour l'avancement des Sciences Congrès de Montanban 1902.

15) —: Recherches sur les Myriapodes de corse et leurs parasites. in: Arch. Zool. expér. et générale (4) Vol. 1 p. 307—358 1903.

16) Lühe, M.; Die Coccidienliteratur der letzten vier Jahre. in: Zool. Centralbl. Jahrg. X 1903.

17) Moroff, Th. & Fiebiger, J.: Über Eimeria subepithelialis n. sp. in: Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

18) Perez, M: Sur une Coccidie nouvelle, Adelea mesnili (n. sp.) parasite coelomique d'un Lépidoptère. in: C. R. Soc. Biol. Paris sér. 11 V. 1 1899.

19) —: Le cycle évolutif de l'Adelea mesnili. in: Arch. f. Protistenk. Bd. II 1903.

20) Schaudinn, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. in: Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. der Tiere Bd. 13 1900.

21) —: Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica, der Erreger der perniciösen Enteritis des Maulwurfs. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte zu Berlin Bd. 18 1902.

22) —: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spyrochaeta. (Vorläufige Mitteilung.) in: Ibid. Bd. 20 1904.

23) Schaudinn, F. & Siedlecki, M.: Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. in: Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. 1897 p. 192—203.

24) Schneider, A.: Etude sur le développement des Grégarines. in: Tablettes Zoologiques T. 1 1885—86.

25) —: Coccidies nouvelles ou peu connues. in: Ibid. T. 1 1885.

26) Siedlecki, M.: Étude cytologique et cycle évolutif de la coccidie de la seiche. in: Ann. de l'Inst. Pasteur 1898.

27) —: Étude cytologique et cycle évolutif de Adelea ovata Schneider. In: Ibid. 1899.

28) Wilson, Edmund: The cell in development and Inheritance. New-York 1902.

29) Moroff, Th.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. in: Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. 1906.

Tafelerklärung.

Tafel II.

Fig. 1—8 Adelea zonula.

Fig. 1. Erwachsener Makrogametocyt, nachdem dessen Karyosom und Nukleolo-Centrosom eine Reduktion erfahren haben. 1500 : 1.

Fig. 2. Makrogametocyt während der Reifung. 1500 : 1.

Fig. 3. Reifer Makrogametocyt mit bereits eingedrungenem Mikrogamet. 1500 : 1.

Fig. 4 u. 5. Zwei mit Safranin-Gentian-Orange gefärbte Makrogametocyten, bei denen man die bakterienähnlichen Gebilde sehen kann.

Fig. 6. Verschmelzung des männlichen und weiblichen Kerns und die Ausscheidung der Oocystenhülle.

Fig. 7. Teilung des Oocystenkerns und Bildung der Sporocysten.

Fig. 8. Teilung der Sporocystenkerne.

Zur Kenntnis der Castanelliden und Porospathiden.

Fünfte Mitteilung über die Tripyleen der „Valdivia"-Ausbeute.

Von
Valentin Häcker
Technische Hochschule, Stuttgart.

(Hierzu 11 Textfiguren.)

Die Bearbeitung der in der „Valdivia"-Ausbeute enthaltenen Castanelliden hat mir die Möglichkeit gewährt, die Beschreibung, welche Häckel von dieser Tripyleenfamilie gegeben hat, in mehreren Punkten zu ergänzen.

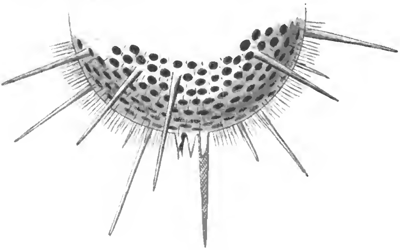


Fig. 1.

Zunächst kann ich im Gegensatz zu den Angaben Häckel's feststellen, daß auch die Castanelliden wirkliche „Tripyleen“ im Sinne R. Hertwig's sind, insofern ihre Centralkapsel, wie speziell für Castanidium variabile Borgert auf mehreren Schnittserien nachgewiesen werden konnte, zwei Parapylen besitzt.

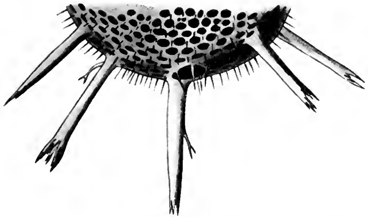


Fig. 2.

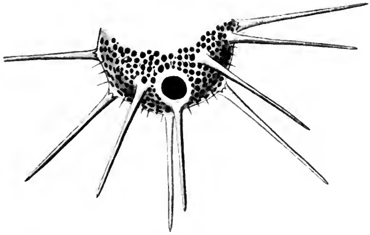


Fig. 3.

Welche Stellung den Castanelliden innerhalb der Tripyleen angewiesen werden muß, geht aus der feineren Schalenstruktur

hervor. Schon HÄCKEL hat in der Gitterschale einiger größerer Formen ein Netzwerk von feinen, tangential gelegenen Kieselfäden (vgl. Fig. 6) und in den Radialstacheln einen Achsenstrang

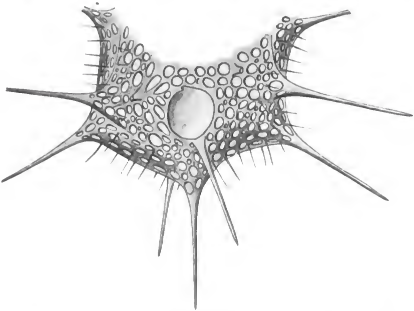


Fig. 4.

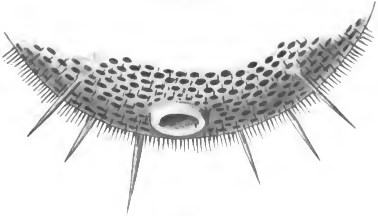


Fig. 5.

beobachtet, also dieselben Gebilde, welche auch bei den Aulosphäriden, Circoporiden und Tuscaroriden vorkommen. Dagegen soll nach Häckel die charakteristische „Porzellanstruktur" der Circoporiden und Tuscaroriden den Castanelliden stets fehlen. Wenn man indessen die Castanellidenschalen unmittelbar nach dem Einschließen in Kanadabalsam untersucht, so sieht man sehr häufig und zwar bei den verschiedensten Formen, daß, ähnlich wie in den Gehäusen der Circoporiden und Tuscaroriden, innerhalb des Balkenwerks der Gitterschale und zwar in einer die Achsennadeln umgebenden Markschicht Luftbläschen anschießen (Fig. 6, links unten), so daß nach und nach die ganze Schale bis auf schmale hyaline Porensäume ein undurchsichtig körniges, auf eine fein-poröse Struktur hinweisendes Aussehen annimmt. Nach längerem Verweilen in Kanadabalsam dringt nun der letztere, ebenso wie dies vielfach bei den Gehäusen der Circoporiden und Tuscaroriden der Fall ist, in die Schalensubstanz ein und resorbiert die in den feinsten Porenräumchen enthaltene Luft. Häufig kann man auch jetzt noch sowohl die poröse Beschaffenheit der Balkenmitten, als auch die feinen Achsennadeln deutlich erkennen, in den meisten Fällen freilich nimmt die ganze Schale nach und nach eine scheinbar homogene, „hyaline" Beschaffenheit an.

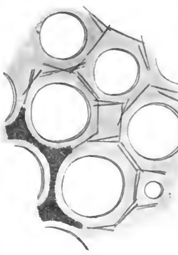


Fig. 6.

Es geht aus diesen Beobachtungen hervor, daß sich die Castanellidenschale, mindestens in einem gewissen Entwicklungsstadium, in ähnlicher Weise wie die Schalen der Circoporiden und Tuscaroriden aus drei Bestandteilen zusammensetzt: aus den beiden homogenen, durch die Porensäume miteinander in Verbindung stehenden Grenzlamellen, aus einer porzellanartigen Füllsubstanz und endlich aus einem System von feinsten, tangential gelegenen Achsenfäden.

Nimmt man die große Ähnlichkeit hinzu, welche einige Casta-

nelliden (z. B. Castanidium Moseleyi circoporoides, Fig. 4, und Castanidium sol, Fig. 3) und Circoporiden hinsichtlich ihrer polyedrischen Form und der regelmäßigen Stachelzahl [1]) zeigen, so wird man dazu geführt, die Castanelliden mit den Circoporiden und Tuscaroriden in eine engere systematische Verbindung zu bringen und diese drei Familien unter Benutzung einer von Häckel gelegentlich angewandten Bezeichnung: „Phäocalpia" (κάλπις, Urne) von dem Rest der Phäogromien (Challengeriden, Medusettiden und verwandten Formen) als eine besondere Unterordnung abzutrennen. [2])

Vielleicht ist es angebracht, dieser neuen Unterordnung auch die Familie der Porospathiden (Borgert, 1901) einzugliedern. Wie ich unter Zuhilfenahme von Schnitten und in Ergänzung und teilweiser Berichtigung der Darstellung von Häckel (1887), Cleve (1899) und Borgert (1901) feststellen kann, setzt sich die Schale speziell von Porospathis holostoma (Cleve) aus folgenden Teilen zusammen. Zu innerst finde ich (Fig. 7) zwei Lamellen aus Kieselsubstanz. Darüber erheben sich zapfenförmige Papillen,

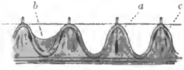


Fig. 7.

[1]) Bei mehreren Exemplaren von Castanidium Moseleyi circoporoides und Castanidium sol fand ich etwa 20 Radialstacheln, bei anderen Exemplaren von C. sol ungefähr 40.

[2]) Auf die außerordentlich engen und vielfachen Beziehungen der Circoporiden und Tuscaroriden zu den Phäosphärien habe ich schon an anderer Stelle (Jen. Zeitschr. 39. Bd. 1904 p. 633 ff.) hingewiesen. Hier mag noch auf einen weiteren Punkt aufmerksam gemacht werden, nämlich auf die große Übereinstimmung der die beiden Schalen von Cannosphaera antarctica verbindenden Radialbalken mit den Radialstacheln der Circoporiden. Wie letztere, so besitzen auch die Radialbalken von Cannosphaera durchweg einen Achsenstrang. Ihr Lumen, wenn ein solches vorhanden ist, kommuniziert nicht, wie Häckel und früher auch ich angegeben haben, mit dem Binnenraum der inneren Schale, vielmehr sind die Radialbalken, ganz wie die Radialstacheln der Circoporiden und Tuscaroriden, pyramidenförmigen Erhebungen der Schale eingepflanzt, welche von einer geringen Zahl von fensterartigen Poren, meist von nur einer oder zweien, durchbrochen sind. Nimmt man noch die feinporöse Beschaffenheit der inneren Schale hinzu, so ergibt sich eine außerordentlich weitgehende Übereinstimmung im Bau des Cannosphäriden- und Circoporidenskelettes, und es liegt für mich noch mehr als früher (l. c. p. 634), die Veranlassung vor, zwischen der inneren Schale von Cannosphaera und dem Gehäuse der Einzeltiere der koloniebildenden Tuscaroren eine Parallele zu ziehen.

welche aus einem hohlen Kern und einer deckenartig darüber liegenden äußeren Grenzlamelle bestehen. Der Hohlraum des Kerns kann vielfach infolge seiner Füllung mit Luftblasen mit Sicherheit nachgewiesen werden, ebenso finden sich nicht selten Luftbläschen in dem Spaltraum zwischen Zapfen und äußerer Grenzlamelle (*c*). Jeder Zapfen ist mit sechs benachbarten durch je eine gratartige Leiste (*b*) verbunden, so daß in Oberflächenansicht (vgl. Häckel, Chall.-Rep., tab. 116, fig. 2a) die einzelnen Zapfen zusammen mit diesen Lamellen regelmäßig sechsstrahlige, opake Sternfiguren bilden, zwischen welchen dreieckige, hell erscheinende Einsenkungen liegen, die beim lebenden Tier vermutlich mit Weichkörpersubstanz ausgefüllt sind. Die Spitzen der Zapfen sind untereinander durch eine färbbare extrakalymmale Außenmembran verbunden, welche bei einigen Exemplaren von kurzen, den Zapfen aufsitzenden, vielfach hornförmig gekrümmten Röhrchen durchbrochen ist. Ob deren Hohlraum mit dem des Zapfenkerns und durch Poren der inneren Grenzlamelle mit dem inneren Schalenraum kommuniziert, habe ich nicht mit Sicherheit entscheiden können, wenn mir auch zahlreiche Bilder auf einen derartigen Zusammenhang hinzuweisen scheinen. Die hohlen Radialstacheln stehen mit ihrem Lumen jedenfalls nicht mit dem Schalenraum in Verbindung, sondern sind der Schale in ähnlicher Weise eingepflanzt, wie die Stacheln der Aulosphäriden und Phäocalpien. Bezüglich des trompetenförmigen Pylomanfsatzes habe ich den früheren Beschreibungen nur hinzuzufügen, daß derselbe mit seinem centralen Abschnitt in den Schalenmund hereingeschoben ist, wie ein Ofenrohr in eine Zimmerwand, und zwar bis zu einer ringförmigen Verdickung, mit welcher er gleichzeitig dem Rande des Schalenmundes aufsitzt.

Im Hinblick auf diese Struktur schließe ich mich den Bedenken an, welche Häckel und Borgert hinsichtlich einer Zugehörigkeit der Gattung Porospathis zu den Medusettiden ausgesprochen haben. Will man nicht eine besondere Unterordnung für die Porospathiden aufstellen, so wird man vielleicht die ausgeprägt strahlige Struktur ihrer Schale und die Art der Stachelinsertion betonen und ihnen einen Platz in der Nähe der Aulosphäriden und der primitiveren Phäocalpien (Castanelliden und Circoporiden) anweisen, bzw. sie den letzteren angliedern dürfen.

Kehren wir zu den Castanelliden zurück. Innerhalb dieser Familie eine natürliche Gruppierung vorzunehmen, ist deshalb mit einigen Schwierigkeiten verknüpft, weil die verschiedenen Artcharaktere in ähnlicher Weise, wie dies bei anderen Tripyleengruppen (Aulospathis, Tuscaroren) der Fall ist, in nahezu allen nur denkbaren Kombinationen miteinander verbunden sein können. Sphärische oder eiförmige Gestalt, kleinporige oder weitmaschige Schalenstruktur, Bewaffnung des Pyloms mit einer Krone von Zähnen oder mit 1—3 Radialstachen, die Beschaffenheit der letzteren, ob glatt oder skulpturiert, ob einfach oder verzweigt, alle diese Merkmale und noch mehrere andere können in sehr verschiedener Weise miteinander vereinigt sein, so daß sie meist nur einen sehr relativen systematischen Wert besitzen (vgl. Fig. 1—5). Am besten durchführbar ist die auch von Häckel vorgeschlagene Einteilung der Castanelliden in zwei Hauptgruppen, je nachdem eine mehr gleichmäßige Ausbildung der radialen Skelettelemente oder eine Differenzierung von Hauptstacheln und Nebendornen vorliegt, oder, physiologisch ausgedrückt, je nachdem die radialen Skelettelemente vorwiegend die Bedeutung eines Stützapparates für die extrakalymmale Sarkodehaut oder zum Teil auch die eines Schwebe- oder Fangapparates haben.

Auch bezüglich der weiteren Gliederung der Familie wird man im großen ganzen dem Häckel'schen System folgen dürfen, nur scheinen mir die Formen, welche der Häckel'schen Diagnose zufolge der Gattung Castanopsis zuzuweisen sind, ziemlich heterogener Natur zu sein, und außerdem sehe ich mich veranlaßt, zwei neue Gattungen aufzustellen.

Mit dem Gattungsnamen **Castanea** bezeichne ich eine wohlbegrenzte, zweifellos natürliche Gruppe von sehr großen (bis zu 1.25 mm im Durchmesser betragenden) Formen mit schwach entwickelten Hauptstacheln, welche vielfach nur wenig gegenüber den Nebendornen hervortreten, sowie mit einer verhältnismäßig kleinen Pylomöffnung, welche bald von niederen Höckern besetzt ist (C. Henseni [Borgert]), bald die Form eines Kraters (C. amphora n. sp., Fig. 5), bald die eines glatten Wulstes (C. globosa n. sp.) hat. Die Formen der Gattung Castanea schließen sich am meisten an die Gattung Castanidium, insbesondere an Castanidium variabile, an, von welch letzterem sie sich aber, abgesehen von ihrer bedeutenden Größe, dadurch unterscheiden, daß der Pylomrand nicht die für die Gattung Castanidium charakteristische Be-

waffnung mit 1—3 Radialstacheln aufweist.[1]) Alle hierher gehörigen Formen scheinen den wärmeren Meeresgebieten und zwar den Schichten des Knephoplanktons (50—400 m) und Skotoplanktons (400—1500 m) anzugehören.

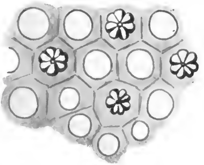


Fig. 8.

Eine ganz eigenartige Gruppe (**Circocastanea n. g.**) wird durch eine im südlichen Indik erbeutete Castanellide (C. margarita n. sp., Fig. 8) repräsentiert. Dieselbe schließt sich hinsichtlich der Bildung der radialen Skelettelemente und der Beschaffenheit der Pylomöffnung an die Gattung Castanella an, unterscheidet sich aber von allen anderen Castanelliden dadurch, daß die Basis der Nebendornen von einem Kranz von 4—7, meist 5 oder 6, geschlossenen, im Kanadabalsampräparat mit Luftperlen gefüllten Hohlräumen umgeben ist. Die basalen Porenkränze und die gewöhnlichen Schalenporen sind fast auf der ganzen Schale in der Weise angeordnet, daß je ein Porenkranz von sechs Schalenporen umgeben ist.

Im Hinblick auf die große Selbständigkeit der Artcharaktere und die Mannigfaltigkeit der Gruppierung wäre eine genaue Kenntnis der Skelettbildungsprozesse der Castanelliden von großem entwicklungsphysiologischem Interesse. Nun hat mir tatsächlich das antarktische Material der „Valdivia" eine erhebliche Zahl weichhäutiger Exemplare mit oder ohne teilweise Ver-

[1]) Nur bei einigen wenigen Exemplaren von Castanea globosa fand ich am Pylomrand oder in der Nähe desselben einen, im letzteren Falle skulpturierten Radialstachel.

kieselung geliefert, welche nach unseren bisherigen Kenntnissen in erster Linie als wirkliche ontogenetische Stadien zu deuten wären (z. B. Fig. 9, 10 u. 11). Indessen ist darauf hinzuweisen, daß diese weichhäutigen Schalen nicht nur selber eine Reihe von Abnormitäten (rudimentäre Stacheln, sehr große Pylomöffnungen u. a.) aufweisen, sondern daß sich neben ihnen sehr zahlreiche Zustände vorfanden, welche, nach meinen Erfahrungen bei anderen Tripyleen, teils als partielle Differenzierungen und Entwicklungshemmungen, teils als eigentliche Monstrositäten zu bezeichnen sind. Zu den letzteren gehören insbesondere birnförmige Gehäuse mit seitlicher Pylomöffnung, Gehäuse mit mehreren Pylomöffnungen, ferner solche mit doppeltem Gitterwerk, mit verkrüppelten Radialstacheln, ganz stachellose Formen usw.

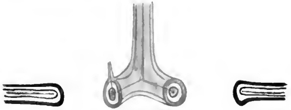


Fig. 9.

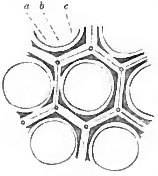


Fig. 10.

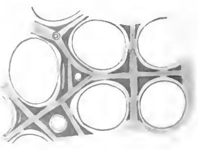


Fig. 11.

Mit Rücksicht auf dieses Zusammentreffen möchte ich auch die andere Möglichkeit nicht ausschließen, daß die vorhin erwähnten „weichhäutigen“ Stadien wenigstens zum Teil ebenfalls in die Kategorie der partiellen Differenzierungen und Entwicklungshemmungen gehören, daß es sich also um Gitterschalen handelt, bei

denen der Skelettbildungsprozeß auf irgend einer frühen Stufe zum Stillstand gelangt ist.[1]) Zweifellos ist man aber auch von dieser Voraussetzung aus berechtigt, dieselben als Material für die Analyse der bei der Skelettbildung zusammenwirkenden Elementarvorgänge zu benutzen.

Wie ich hier kurz zusammenfassen möchte, bin ich zu dem Ergebnis gelangt, daß die Skelettbildung der Castanelliden eine sehr nahe Berührung zeigt mit der der Aulosphäriden, und daß sie, namentlich was die dabei wirksame Quellungs- und Verkieselungsvorgänge anbelangt, einen sehr raschen Verlauf nimmt. Als Elementarprozesse möchte ich betrachten: die Abscheidung feiner Achsennadeln; ihre Orientierung unter der Wirkung richtender Centren (der späteren Knotenpunkte der Gitterschale); die Bildung cylindrischer, die Achsennadeln umschließender und in den Knotenpunkten zusammenfließender, wahrscheinlich gallertiger „Vakuolen"; den primären Verkieselungsprozeß, welcher von der die Vakuolen umhüllenden Sarkodemembran (Vakuolenhaut) seinen Ausgang nimmt und zur Bildung der Grenzlamellen führt; den sekundären Verkieselungsprozeß, welcher sich auf die weichen Teile der Balkenmitte erstreckt.

Ohne hier auf eine nähere Begründung dieses Gesamtergebnisses einzugehen, möchte ich nur an einigen Figuren zeigen, daß vom Boden der gewonnenen Anschauungen aus sämtliche Bilder eine einfache Deutung finden. Fig. 9 z. B. stellt einen Durchschnitt durch eine Castanellidenschale dar, welche von harten Bestandteilen nur die Achsenfäden und die primäre Kieselrinde aufweist. Die noch weichen Innenteile der Skelettbalken, nämlich die färbbare Vakuolenhaut und die wahrscheinlich gallertige Füllsubstanz, zeigen eine plasmolytische Schrumpfung und haben sich um die Achsennadeln zusammengezogen. Im ganzen befindet sich also die hier dargestellte Schale auf einer Vorstufe, auf welcher der sekundäre Verkieselungsprozeß noch nicht eingesetzt hat und welche dem Zustand des fertigen Aulosphäridenskelettes annähernd entspricht.

An den zwei Schalenstücken, welche in Fig. 10 u. 11 dargestellt sind, hat innerhalb der durch primäre Verkieselung entstandenen Grenzlamellen (welche bei *a* als Porensäume sichtbar sind) der

[1]) Als Stütze für diese Anschauung sei hier noch angeführt, daß ich bei einem ganz weichhäutigen Exemplar von Tuscarora hirsternaria nicht, wie ich erwartet hatte, ein sehr jugendliches, sondern im Gegenteil ein sehr fortgeschrittenes Kernstadium auffand.

sekundäre Verkieselnngsprozeß seinen Anfang genommen nnd innerhalb jedes Skelettbalkens zur Bildnng einer gelben, körnig-nndurchsichtigen (in der Fignr dnnkel gehaltenen) Kieselscheide (*b*) geführt, welche den die Tangentialnadeln (*c*) einschließenden, noch unverkieselten Achseuteil umschließt. Die Figuren führen nns also den Beginn des sekundären Verkieselungsprozesses vor, sie werfen aber gleiehzeitig auch ein Licht auf die allerfrüheste Phase der Skelettbildnng. Der gerade, geleisähnliche Verlauf der hellen Achsenteile (Fig. 11) findet nämlich am einfachsten seine Erklärnng, wenn man, wie dies oben geschehen ist, annimmt, daß das polygonale Maschenwerk der geraden Tangentialnadeln und der sie umschließenden „Vakuolen" die primäre Struktur, die abgerundeten Formen der definitiven Balken und Poren dagegen ein sekundäres Verhältnis darstellen.[1])

Ich verweise zum Schluß nochmals auf die Fig. 6, welche eine wahrscheinlich schon fertige Schale darstellt, bei welcher auch die axialen Teile der Balken von einer in diesem Falle porzellanartig-porösen Kieselsubstanz ausgefüllt sind, die in einem Teil der Schale mit Luftbläschen imbibiert ist.

Bezüglich der Fortpflanzung der Castanelliden sei hier nnr erwähnt, daß, ähnlich wie bei den „dicystinen" (d. h. normalerweise mit zwei Centralkapseln versehenen) Aulacanthiden und anderen Tripyleen, sehr häufig innerhalb einer Centralkapsel zwei dicht nebeneinander gelagerte Kerne und daß ferner häufig innerhalb einer Schale zwei einkernige Centralkapseln angetroffen werden. Bei einem glücklicherweise vorzüglich (mit Chromosmiumessigsäure) konservierten Exemplare von Castanidium variabile waren die Kerne beider Centralkapseln bereits wieder in synchroner Teilung begriffen und, dank einer besonders günstigen Schnittrichtung, konnten auf einem Querschnitt durch eine der Tochterplatten die faden- oder hakenförmigen Tochterchromosomen einer sehr genauen Zählung unterworfen werden. Die Zahl beträgt mindestens 1500 und dürfte

[1]) In der in Fig. 11 abgebildeten Schale treten die Tangentialnadeln nur zum Teil und weniger deutlich als sonst hervor. Da ich dieselben aber sonst bei nahezu allen weichhäutigen und färbbaren Schalen wiederfand und sie auf anderen Präparaten nach dem Einschließen in Kanadabalsam unter meinen Augen verschwinden sah, so zweifle ich nicht daran, daß sie auch hier ursprünglich vorhanden waren.

1600 nicht überschreiten. Es liegen also ganz ähnliche Zahlenverhältnisse vor, wie bei Aulacantha scolymantha, bei welcher nach Borgert (1900) „die Zahl 1000 auf jeden Fall noch bedeutend zu niedrig gegriffen sein dürfte“.

In bezug auf die Horizontalverbreitung der Castanelliden sei hervorgehoben, daß meinem Material znfolge mehrere Formen als ausgesprochene Warmwasserformen bezeichnet werden können, so Castanea Henseni, globosa nnd amphora (Fig. 5), Castanidium sol (Fig. 3), Moseleyi (Fig. 4) und Murrayi, Castanissa Valdiviae (Fig. 1), Castanella Thomsoni u. a. Speziell die südöstliche Ecke des Indik (T. St. 172—175), welche anch sonst durch besondere Tripyleenformen ausgezeichnet ist, beherbergt eine Reihe markanter Erscheinungen aus der Gattung Castanarium, sowie die ganz isoliert stehende Form Circocastanea margarita (Fig. 8).

Unter den Kaltwasserformen darf Castanidinm Apsteini Borgert als ausgesprochen bipolar betrachtet werden, da diese Art vom „National“ in der Irmingersee nnd im Labradorstrom, von der „Valdivia“ an verschiedenen antarktischen Stationen (T. St. 120, 136, 142, 149, 151) und außerdem einmal im südlichen Indik (T. St. 174) gefischt wnrde. Diese Form, welcher die sehr zahlreichen, verschieden langen, namentlich anf der Pylomseite zu einem dichten Wald zusammengedrängten Radialstacheln eiu seeigelartiges Aussehen verleihen, reiht sich den vielen „struppigen“ Tripyleentypen an, durch welche, wie ich a. a. O. wiederholt hervorgehoben habe, die Antarktis ausgezeichnet ist. Bemerkt sei noch, daß die antarktische Form beträchtlich größer als die arktische ist. Der Schalendurchmesser beträgt bei ersterer 0,75—0,9, bei letzterer nach Borgert 0,45—0,5 mm.

Hinsichtlich der Vertikalverbreitnng der Castanelliden mag erwähnt werden, daß sie, wie die meisten anderen Tripyleenfamilien, in der obersten Schicht des Phaoplanktons (0—50 m) fehlen, dagegen in sehr beträchtlicher Anzahl in den Schichten des Knephoplanktons (50—400 m) und Skotoplanktons (400 bis 1500 m), zum Teil auch noch in der Schicht des Nyktoplanktons (1500—5000 m) vorkommen. Mehrere der vorhin erwähnten Warmwasserformen scheinen vorwiegend knephoplanktonisch zu sein, so Castanea globosa nnd amphora (Fig. 5) — diese beiden trotz ihrer bedeutenden Größe —, und ebenso Castanidium sol (Fig. 3), bei welchem schon die im Verhältnis zum Schalendurchmesser mächtige

Ausbildung der Hauptstacheln auf den Aufenthalt in wärmeren Wasserschichten hinweist. Als ausgesprochen skotoplanktonisch erweisen sich auf Grund des Schließnetzmaterials der „Valdivia“: Castanidium Apsteini, Castanella Sloggetti Häckel und Castanarium Hookeri Häckel.

Es sei zum Schluß noch eine kurze Artdiagnose der fünf in den Fig. 1—5 abgebildeten Formen gegeben, welche eine Auslese der in der „Valdivia“-Ausbeute enthaltenen neuen Arten und Unterarten darstellen.

Fig. 1. *Castanissa valdiviae n. sp.* Schale kugelig, derb. Schalendurchmesser: 0,65—1,00 m. Pylomrand mit 3—5 derben Zähnen und mit 1—3 Hauptstacheln besetzt. Zuweilen zeigt einer der Hauptstacheln des Pylomrandes eine netzartige Skulptur. Hauptstacheln im allgemeinen gerade, glatt, ziemlich stämmig, etwas länger als der Schalenradius. Verbreitung: Tropischer Atlantik und Indik.

Fig. 2. *Castanura echinus n. sp.* Schale kugelig oder leicht polyedrisch, derbwandig. Schalendurchmesser: 0,8 mm. Pylomrand mit 4—5 schlanken, isolierten Zähnen und einem Hauptstachel besetzt. Hauptstacheln sehr stämmig, gelblich, etwas länger als der Radius, am Ende büschelförmig verzweigt (ähnlich manchen Anlokleptesstacheln), vielfach mit gegabelten Seitenästen. Verbreitung: Tropischer Atlantik.

Fig. 3. *Castanidium sol n. sp.* Schale leicht polyedrisch, dickwandig. Schalendurchmesser: 0,4—0,5 mm. Pylomöffnung verhältnismäßig klein, meist mit 1, höchstens mit 3 Hauptstacheln besetzt. Hauptstacheln sehr kräftig, auffallend gelblich, länger als der Schalendurchmesser, nicht selten an der Pylomseite dichter zusammengedrängt. Von Castanidium variabile Borgert ist diese Form durch die längeren, stärkeren Hauptstacheln und die spärlicheren Nebendornen unterschieden. Verbreitung: Tropischer Atlantik und Indik.

Fig. 4. *Castanidium Moseleyi circoporoides n. subsp.* Schale polyedrisch mit verhältnismäßig großen, sehr ungleichen Poren, mit dünnen geraden Stacheln und kräftig entwickelten Basalpyramiden. Schalendurchmesser: 0,7 mm. Größere, 0,9 mm im Durchmesser betragende Unterarten sind C. M. Gorgonia, mit kleinen Poren, mit derben, vielfach leicht gewellten

Stacheln und schwach oder kaum entwickelten Basalpyramiden, sowie C. M. microporum, mit kleinen Poren, mit dünnen geraden Stacheln und kräftig entwickelten Basalpyramiden. Verbreitung aller Formen: Tropischer Atlantik und Indik.

Fig. 5. *Castanea amphora n. sp.* Mit den Merkmalen der Gattung (siehe oben). Pylom kragen- oder kraterförmig. Schalendurchmesser: 1,0—1,25 mm. Verbreitung: Tropischer Atlantik und Indik.

Stuttgart, den 15. März 1906.

Etude sur la Clypeolina marginata.

Par
E. Penard (Genève).

(Avec 10 figures en texte.)

En 1902, dans ma „Faune rhizopodique du Bassin du Léman", je disais, à propos d'un organisme décrit sous le nom de Clypeolina marginata: „Un trait caractéristique de cette espèce, et qui ne se retrouve dans aucun autre rhizopode, réside dans le fait qu'on peut considérer l'enveloppe comme formée de deux valves, qui plaquent l'une contre l'autre." Dans un ouvrage ultérieur (les Sarcodinés des Grands Lacs, Genève 1904), j'apportais quelques renseignements complémentaires sur cet organisme intéressant, dont il eût été désirable de faire une étude plus complète. Mais la Clypeolina, restée rare jusque là, et dont la coquille peu transparente ne laisse guère voir le plasma, se montrait d'une observation particulièrement difficile, et, très-occupé de la description générale des rhizopodes des environs de Genève, je m'étais borné pour cette espèce aux considérations strictement nécessaires pour la systématique. Tout dernièrement, en Décembre 1905, j'ai retrouvé au marais de Bernex la Clypeolina, non plus, il est vrai, absolument identique à la forme primitivement décrite et qui provenait du lac, mais suffisamment rapprochée cependant de cette dernière pour qu'il n'y ait pas lieu de douter de l'identité spécifique des deux organismes.

Le marais de Bernex, ou des Tuilières comme on l'appelle dans le pays, n'est pas un marais véritable: sur une terre inculte, d'un hectare à peine en étendue, se voient dans l'argile glaciaire, au nombre d'une quarantaine et disséminés sans ordre par ci par là, des creux, parfois assez profonds, généralement tapissés d'un épais

tapis de mousses submergées, et qui pour la plupart renferment de l'eau toute l'année;[1]) c'étaient là les trous dont, il y a un siècle environ, on retirait l'argile nécessaire à la tuilerie voisine, et dont il ne reste plus trace aujourd'hui. Or ces fosses, ou ces flaques d'eau tranquille et généralement assez pure, sont pour la plupart très-riches en organismes microscopiques de toute sorte, souvent fort rares, et ces derniers, bien souvent, n'ont élu domicile que dans telle ou telle fosse à l'exclusion des autres. C'est alors dans un de ces creux, que jusque là je n'avais pas visité, l'un des plus petits et par-dessus lequel un enfant pourrait sauter à pieds-joints, que j'ai récolté, en grande abondance, l'organisme qui va nous occuper; partout ailleurs dans le marécage on le chercherait en vain.

La Clypeolina marginata (fig. 1, 2) est un rhizopode de taille assez faible, variant presque toujours entre 120 et 135 μ en

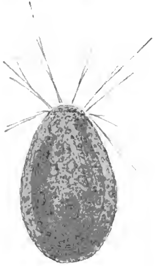


Fig. 1.

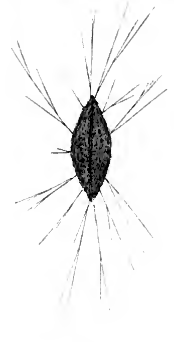


Fig. 2.

Fig. 1. L'animal vu par sa face large. — Fig. 2. Un autre, vu d'en haut par son extrémité postérieure; pseudopodes largement déployés.

[1]) En 1904 et 1905, où l'été s'est montré particulièrement chaud et sec, presque tous ces creux ont été desséchés jusqu'au fond, pour la première fois sans doute

longueur, mais pouvant, dans des cas exceptionnels, arriver à 150 μ ou descendre à 80 μ. La largeur est légèrement supérieure à la moitié de la longueur, et, par suite d'une compression assez forte, l'épaisseur de l'organisme est elle-même égale à la moitié à peine de la largeur; une section soit transversale, soit sagittale, à travers la Clypeolina, donnerait ainsi la figure d'une lentille biconvexe, plus petite et plus renflée dans la coupe transversale. En résumé ce rhizopode revêt la forme d'une moule d'eau douce; il est elliptique, mais cependant cette ellipse, dans la grande généralité des cas, se montre très-légérement rétrécie à l'une de ses extrémités, qui est celle par laquelle se font jour les pseudopodes; c'est donc là la partie antérieure, qui en même temps est plus comprimée que la partie postérieure. Reprenons les uns après les autres les détails de structure de cet organisme.

Enveloppe externe.

Notre rhizopode est revêtu tout entier d'une enveloppe, jaune ou brunâtre, devenant plus foncée et d'un gris noirâtre avec le temps; mais ce que cette enveloppe présente de particulier, c'est qu'elle est nettement formée de deux parties disjointes, dont chacune aurait la forme d'une valve d'anodonte, et qui en s'appliquant l'une contre l'autre complètent la ressemblance avec ce mollusque même.

Ces valves, rigides mais minces et fragiles, sont formées de très-petites écailles plates, irrégulières, particules siliceuses d'origine étrangère, noyées dans une sorte de vernis chitineux qui les soude les unes aux autres, et entremêlées de paillettes qui forment une sorte de feutrage plus ou moins serré (on ne distingue d'ailleurs guère ce feutrage que sur des préparations microscopiques, dans le baume); en outre, on voit par ci par là disséminées des plaquettes plus grandes, en nombre variable mais toujours restreint, et collées sans ordre à la surface. Le bleu de Krésyl, „Brillantkresylblau“, colore instantanément toute cette coquille en un violet améthyste foncé, et lorsque le réactif est enlevé pour être remplacé par de l'eau pure, la coque reste longtemps, et peut-être indéfiniment, colorée.

Ces valves, nous l'avons dit, sont parfaitement indépendantes l'une de l'autre; elles peuvent, dans l'état de repos de l'animal ou bien lorsque le plasma n'est pas distendu par la nourriture capturée,

depuis de longues années, et alors, au retour de l'eau, le marais, de très-riche qu'il était, s'est montré d'une pauvreté excessive; beaucoup d'espèces rares ont maintenant disparu (Raphidiophrys viridis, Chlamydomyxa montana, etc.); mais peut-être cette disparition n'est-elle que temporaire.

s'appliquer l'une sur l'autre par leur bord tout entier, fermant ainsi hermétiquement la coquille où l'on ne distingue pas même trace d'un péristome; mais la plupart du temps on trouve la coquille entrebaillée, les valves écartées laissant le corps en partie à nu (fig. 3). On distingue alors une sorte de rainure, qui fait le tour complet de la coquille; parfois les bords de cette rainure sont parallèles, parfois au contraire ils font entre eux un angle plus ou moins prononcé, et dans ce dernier cas, le plus souvent les bords se rapprochent l'un de l'autre vers la partie antérieure, en s'écartant au contraire vers l'arrière, si bien que parfois l'entrebaillement est assez prononcé pour que l'organisme présente une certaine ressemblance avec un soufflet, et que de grosses diatomées renfermées dans le plasma fassent hernie en arrière de l'animal.

En somme, nous avons là un rhizopode bivalve, et dont les valves peuvent s'écarter plus ou moins suivant les besoins de l'animal; mais ici cet écartement est purement passif, et ne se produit qu'avec la plus grande lenteur; lorsque la nourriture capturée est abondante, les valves se desserrent peu à peu, pour revenir au contraire l'une



Fig. 3. Individu vu par le côté, avec valves largement entrebaillées; à l'intérieur, une grosse diatomée, qui en avant fait saillie hors de la bouche, et en arrière est recouverte de l'enveloppe fine interne, moulée sur elle (préparation au baume).

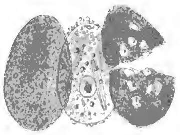


Fig. 4. Individu écrasé, avec les deux valves disloquées. Celle de droite, brisée, est plus foncée, et porte quelques grosses écailles que l'autre n'a pas. A l'intérieur le corps proprement dit (comprimé), où l'on voit des proies, puis le noyau, et des gouttelettes d'huile.

vers l'autre quand les conditions auront changé; sur tel ou tel individu l'on pourra, à un moment donné, constater que l'ouverture est plus forte ou plus faible qu'elle ne l'était une heure auparavant; mais aucune de mes observations ne m'a donné le droit de supposer qu'il puisse se produire des mouvements rapides, par exemple un resserrement subit en cas de danger, etc. Il n'existe pas non plus

de charnière ou de ligament spécial qui pourrait relier sur un point les deux valves l'une à l'autre; et pourtant il me faut mentionner ici un fait qui, s'il n'implique pas l'existence d'une charnière, montre qu'il y a quelquechose, qu'il existe une région de demi-soudure, et cette région est la partie antérieure. En effet, l'on peut au moyen d'une pression faible mais brusque opérée sur la lamelle, et accompagnée d'un mouvement de glissement du couvre-objet, séparer les deux valves, en envoyer une à gauche et l'autre à droite (fig. 4); mais la plupart du temps, cette opération, si bien menée qu'elle soit, ne réussit qu'à moitié, parce que les valves ont peine à se détacher l'une de l'autre dans la région buccale; quelquefois même l'une d'elles se cassera plutôt que de lâcher prise par sa partie antérieure, ou bien ne glissera sur l'autre qu'à moitié, restant par son extrémité antérieure encore fixée à la valve opposée sur laquelle elle semble avoir pivoté de 20 ou 30 degrés.[1] C'est que dans la région buccale se trouvent en général accumulées des particules de toutes sortes, assez nombreuses parfois pour former un bourrelet épais, et ces particules semblent être noyées dans une sorte de colle, qui alors pourrait dans cette région relier plus ou moins solidement les valves entre elles. Cette colle ou matière glutineuse est sans doute extensible, si j'en puis juger par le fait qu'un jour, ayant sous les yeux un individu dont par une pression artificielle j'avais largement disloqué les valves, je constatai la présence bien nette de quelques filaments très-fins, hyalins, semblables à des fils de byssus, et qui partant de l'extrémité antérieure de l'une des valves allaient rejoindre l'autre à la même hauteur. Ces filaments n'avaient certainement rien à faire avec des lambeaux dérivés de l'ectoplasme; après l'écrasement ils restèrent absolument inertes, et résistèrent sans le moindre changement à diverses manipulations qui auraient détruit des éléments de nature purement plasmatique. Cependant il n'y a pas là des filaments préformés, et physiologiquement différenciés; ce sont plutôt des lambeaux de cette matière collante qui se trouverait sur le bord des valves, et, il faut l'ajouter, les fonctions que cette colle aurait à remplir pourraient bien être, pour la plus grande part, d'une nature toute différente de ce que les lignes précédentes auraient pu le faire supposer.

[1]) En 1902, je croyais à une soudure complète des deux valves à la partie antérieure, et je disais alors: „. . . . les valves glissent l'une sur l'autre, mais restent encore adhérentes à la bouche . . . . . .; l'apparence produite est alors celle de ces petits miroirs à couvercle mobile par glissement et uni à la boîte par un axe ou pivot antérieur.“

En effet, l'on constate fréquemment, tout le long des bords des valves, l'existence d'nn épaississement, plus fort daus la partie antérieure où il figure souveut une sorte de bourrelet on de lèvre, et cet épaississement est causé par la présence de parcelles agglntinées sans grande consistance les unes avec les autres, et qui tendent à combler l'espace laissé à nu par l'entrebaillement des valves. Lorsque l'on a réussi, par pression artificielle, à détacher ces dernières, le corps dépouillé des téguments se montre encore assez souvent pourvu d'une sorte de ceintnre (fig. 6), plus ou moins bien conservée (généralement disjointe par l'écrasement), qui indique la place auparavant dessinée par la rainure caractéristique, et cette ceinture est plus forte à la bouche que partout ailleurs. C'est là en somme une traînée de débris, de particules, qni comme une arête longitudinale font le tour de l'enveloppe interne dont il sera plus loin question.

Quelle est alors la signification de cette ceinture, dont la présence est fréquente, mais qui d'autres fois peut manquer ou bien ne se trouve que peu marquée? J'ai cru d'abord y voir un revêtement spécial, destiné à protéger le corps mis à nu par l'ouverture des valves; mais s'il en était ainsi, ce revêtement devrait toujours exister, et il n'existe pas toujours. Plus tard j'ai supposé qu'il y avait là une zône d'accroissement de la coquille, avec particules destinées à s'ajouter peu à peu à celles qui, déjà soudées, formeut le bord des valves; mais ce bord est nettement tranché, et brusquement passe aux débris disloqués; même sur des valves anciennes et devenues noirâtres avec le temps, on constate cette absence de transition entre la coqnille et les particules agglutinées. Il semble donc qu'il y ait là autre chose, et peut-être, en mettant ce fait en corrélation avec un autre qui à première vue paraît lui aussi extraordinaire, pourrons-nous arriver à une explication qui me semble avoir pour elle de grandes probabilités: dans mon opinion, cette ceinture de fragments disloqués serait destinée à la confection d'une nouvelle coquille, pour un nouvel individu produit par division du plasma; ce seraient là les „plaques de réserve“ caractéristiques des rhizopodes testacés, mais ces particules, au lieu de s'accumuler dans le plasma même de l'animal, ou bien, comme dans certains thécamœbiens, de figurer un bouquet placé exclusivement autour du péristome, formeraient un bourrelet qui descendrait le long des valves. En même temps l'existence de cette ceinture en tant que destinée à la confection d'une nouvelle coquille semble indiquer pour cette coqnille même une genèse particnlière, des procédés spéciaux, différents de ceux que l'on est habitué à constater chez les thécamœbiens en

général. Mes observations me portent en réalité à supposer pour cet organisme des phénomènes de division tout particuliers, dont, sans attendre à plus tard, je voudrais dire ici quelques mots:

Dès les premiers jours de mes études, j'avais été frappé du fait que les deux valves d'un même individu, lorsqu'on parvenait à les séparer, bien qu'identiques de taille et de forme, ne l'étaient pas de structure. Plus tard, en multipliant les contrôles, en disloquant un grand nombre de coquilles, je me suis assuré qu'il y avait là, non pas des phénomènes accidentels, mais bien des conditions normales.

Sur cent individus, en effet:

1° Il y en a cinquante sur lesquels les deux valves sont semblables, ou suffisamment identiques en tout cas pour qu'on n'ait pas l'idée d'y rechercher des différences.

2° On en trouve vingt-cinq autres sur lesquels les valves diffèrent certainement, mais pas assez pour qu'on soit porté à rattacher à ces différences une signification de quelque importance.

3° Dans les vingt-cinq derniers individus, c'est-à-dire sur le quart environ de tous les individus rencontrés,[1] il existe entre les deux valves une différence très-nette, qui se montre soit dans la texture, soit dans la couleur de la coquille, et bien souvent qui concerne ces deux caractères à la fois (fig. 4). Dans le premier cas, qui est le moins habituel, l'une des valves, outre ses petites écailles caractéristiques, en porte un nombre assez considérable de plus grosses, tandis que l'autre valve n'en possède pas, ou bien en montre à peine une ou deux. Or comment supposer que deux valves, formées d'un même magma de particules mêlées, et ramassées par un même animal, puissent revêtir une structure qui ne sera pas la même pour toutes les deux? Evidemment, ces valves n'ont pas été construites en même temps; l'animal, lorsqu'il a modelé l'une d'elles, ne se trouvait pas sur la place même où il avait construit l'autre; ici les matériaux en étaient plus grossiers, là plus fins.

Dans le second cas, qui est le plus fréquent, l'une des valves, devenue grisâtre et sur laquelle les écailles ont des contours nets et noirs comme s'il s'était déposé là de la suie, porte tous les caractères de l'ancienneté; c'est une vieille valve, qui peut-être même parfois est de l'année précédente, a déjà passé un hiver sous la glace; l'autre valve, plus fraiche, d'un jaune clair, et plus trans-

[1] Mes observations sont toutes d'une même saison, Décembre 1905 et Janvier 1906; dans d'autres circonstances, peut-être la proportion aurait-elle été différente.

parente, délicate de nuances, est certainement jeune. Dans ce cas encore, les deux valves n'ont pu se former en même temps.

Quelle est alors la signification de ces faits, qui nous éloignent de tout ce que nous sommes habitués à voir chez les Rhizopodes? Il me semble que la seule explication possible, c'est que dans le genre *Clypeolina*, les phénomènes de division se passent dans ce sens, que *chacun des individus résultant du dédoublement garde l'une des valves anciennes pour n'en porter qu'une seule qui soit nouvelle*, et cette nouvelle valve serait construite au moyen des particules qui jusque là avaient formé ce que nous avons appelé le bourrelet ou la ceinture. Il y aurait là, il est vrai, des phénomènes spéciaux à ce genre; dans les Rhizopodes testacés en général, l'un des individus garde l'ancienne enveloppe, tandis que l'autre en possède une entièrement nouvelle; mais il ne faut pas oublier que dans la *Clypeolina* l'enveloppe est elle-même d'une nature toute spéciale, et que les procédés habituels de construction ont dû nécessairement subir des modifications; dans une enveloppe bivalve, d'autre part, un processus qui permettrait à chacun des nouveaux individus de garder l'une des valves constituerait sans doute une simplification, avantageuse à l'animal.

Cette hypothèse, il faut le dire, ne suffirait pas encore à tout expliquer; comme nous le verrons bientôt, dans la *Clypeolina* les valves ne constituent qu'un revêtement externe, et il en existe un interne, une peau mince et molle, adhérente au plasma, et alors peut-être faudrait-il supposer que cette peau participe elle-même aux phénomènes de division, s'étrangle et s'étend peu à peu sur chacun des nouveaux individus. Des phénomènes de ce genre sont d'ailleurs connus, ou sont probables, dans quelques rhizopodes à peau molle et extensible, comme *Diplophrys* et *Pamphagus*; et, si l'on enlevait à la *Clypeolina* ses deux valves, il resterait un *Pamphagus*.

Quoi qu'il en soit, il m'est impossible de donner aux considérations qui précèdent plus que la valeur d'une supposition; malgré toutes mes peines je n'ai jamais réussi à trouver un individu en cours de dédoublement, et c'est là ce qu'il faudrait avoir. Le fait même de cet insuccès dans mes recherches peut paraître étrange, car la présence fréquente à Bernex d'individus munis de leur bourrelet de particules de réserve sèmblerait montrer que, même en Décembre et en Janvier, époque de la récolte, les phénomènes de division pouvaient se produire; mais, d'une part il est fort possible que ces particules s'accumulent peu à peu et qu'à l'époque citée elles aient

été en quantité encore insuffisante pour former une coquille entiére (et, à en juger d'après la masse qui se trouvait en apparence toujours trop faible, il semblait bien qu'en réalité tel fût actuellement le cas), d'autre part, si pour beaucoup d'espèces la rencontre d'individus en cours de division est chose fréquente, il en est d'autres, assez nombreuses (par exemple presque toutes les Nebela, Gromia, etc.); où ces phénomènes n'ont encore jamais été étudiés, et où l'on est en droit de supposer qu'ils se passent très-vite, ou de nuit, ou enfin dans des circonstances qui nous échappent encore.

Encore un mot à ce sujet: Si l'hypothèse qui vient d'être émise est exacte, comment, pourrait-on le demander, se fait-il qu'on ne rencontre pas plus d'individus à valves nettement dissemblables? nous avons vu que ces individus formaient environ le 25 pour cent de la masse; il semble que tous, ou presque tous, devraient montrer cette dissemblance! Mais ici la réponse est aisée: pour ce qui concerne les différences de structure, on peut dire qu'en somme l'animal construit ses valves toujours d'après les mêmes règles, des particules très-petites qu'en recouvrent par ci par là quelques-unes de plus grosses; et, un peu partout, l'animal trouvera les mêmes matériaux, de sorte que, d'où qu'elles proviennent, la plus grande partie des coquilles auront leurs deux valves à peu près identiques de structure, les coquilles dissemblables étant exceptionnelles; quant à la couleur de ces valves et leur aspect de fraîcheur ou au contraire d'ancienneté, il faut remarquer que, ici comme dans les autres rhizopodes, la coquille jeune ne se distinguera sans doute de la vieille que pendant un temps qui peut-être ne sera pas bien long; la teinte plus clair, l'apparence de jeunesse et de fraîcheur de l'une des valves, devront disparaître tôt ou tard, et les cas seront peu nombreux où ces différences se montreront bien nettement tranchées à nos yeux.[1])

---

[1]) Mon manuscrit était entièrement terminé, et je me préparais à le recopier pour l'envoyer à l'imprimeur, lorsque, désirant faire un dernier contrôle, j'examinai tout au long une récolte conservée, après coloration au carmin, dans l'essence de girofle. J'y trouvai alors, parmi plus de 300 Clypeolina qui me passèrent sous les yeux, d'abord deux ou trois individus dont la partie antérienre était pourvue d'un volumineux paquet de particules qui s'enfonçaient en coin, entre l'ouverture des valves, puis l'exemplaire ici représenté par la fig. 5, et qui me parait donner raison aux vues que j'émettais plus haut:

Entre les valves largement écartées, on voyait le corps proprement dit divisé déjà en deux masses, ou individus, absolument identiques, séparées par une ligne longitudinale bien nette, et accolées suivant leur longueur: les deux noyaux, ovoïdes, étaient en regard l'un de l'autre, légèrement inclinés l'un vers l'autre par leurs

Enveloppe interne.

La coquille à deux valves que nous venons d'étudier, et dont l'entrebaillement peut dans certaines circonstances arriver à mettre à nu le corps mou sur un espace assez considérable, constituerait, réduite à elle-même, un organe de protection moins efficace que la coque continue des thécamœbiens en général; aussi ne devons-nous pas être surpris de trouver dans la Clypeolina une seconde enveloppe, interne celle-là, continue et percée en une seule région qui figurera la bouche.

Cette enveloppe (fig. 6), bien nette à la vue lorsqu'on a réussi à détacher les valves, reste toujours moulée sur le plasma, et revêt par conséquent une forme ellipsoïdale-allongée, rappelant celle d'un gland de chêne; elle est lisse, incolore, légèrement opalescente, fine et plastique, susceptible de se distendre, pas exemple lorsqu'une grosse diatomée fait hernie au dehors. Elle rappelle d'assez près la membrane caractéristique p. e. du genre Pamphagus, mais se montre beaucoup plus fragile. Sur l'animal examiné dans toute son intégrité et revêtu de son enveloppe externe, on ne la voit pas, ou du moins on ne la distingue (et cela même difficilement) que comme une ligne qui délimite nettement les contours du plasma. Pour l'étudier, il faut détacher les valves, et pendant cette opération,

sommets. Entre les valves, à la partie antérieure, se voyait un fort bourrelet de particules, qui en arrière s'avançait en coin vers l'intérieur; les deux anciennes valves étaient largement ouvertes, mais il n'en existait pas encore de nouvelles.

Il y avait là, sans aucun doute, un phénomène de division, et alors cette division se fait ici d'une manière toute particulière, les deux produits à enveloppe molle se formant à l'intérieur de l'ancienne coquille et y restant jusqu'à division achevée. Il semble alors assez naturel que chaque individu emporte avec lui, plutôt que de la perdre, la valve qui le touche directement, pour ne s'en reformer qu'une seule autre en se détachant de son voisin. Comme dans les autres thécamœbiens, la vieille coque n'est pas perdue, mais ici chacun des jumeaux en prend la moitié.

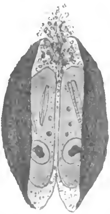


Fig. 5. Individu en cours de division (préparation au baume); à la partie antérieure on voit un amas de particules étrangères.

qui ne réussit que rarement à souhait, le plus souvent elle se déchire, s'émiette tout entière en fragments informes, ou bien ne se voit plus que plissée, méconnaissable. En fait, ce n'est qu'après un nombre assez considérable d'essais que j'ai pu m'assurer de l'existence bien certaine de cette enveloppe, et plus tard j'ai réussi dans différentes occasions à l'obtenir tout entière avec son contenu.

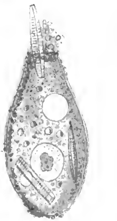


Fig. 6. Plasma recouvert de l'enveloppe interne; on y voit deux vésicules contractiles, le noyau, et à gauche une traînée de particules qui auparavant comblaient la fissure longitudinale mise à nu par l'ouverture des valves.

Comprimée alors avec précaution, on en voit sortir, toujours de l'extrémité antérieure, plasma, noyau et proies capturées; dans cette région, il existe en effet une ouverture, ou bouche véritable, permanente, plutôt large, toujours béante, incapable en apparence de contraction, et qui tronque le corps à angle droit. Mais, presque toujours, il faut le dire, cette partie antérieure est si bien entourée de particules étrangères qui y sont restées agglutinées, que, sur un grand nombre d'essais, ce n'est que dans cinq ou six occasions seulement que j'ai pu voir l'orifice buccal caractéristique, et cela même jamais aussi clairement que je l'aurais désiré.

Cette enveloppe interne, qui peut être considérée comme la membrane propre de l'organisme, au même titre que celle des Pamphagus ou des Diplophrys, est, nous l'avons dit, remarquablement délicate, plus que dans les genres qui viennent d'être cités; et l'on ne peut à ce propos s'empêcher de remarquer que dans ces êtres inférieurs l'on retrouve les mêmes lois que chez des animaux plus élevés en organisation: de même que par exemple chez le Bernard-l'Hermite les téguments que recouvre la coquille étrangère sont devenus mous et faibles, de même ici la membrane, cachée normalement par le revêtement externe, n'a pas la ténacité qu'elle devrait posséder si elle était seule à protéger l'animal.

Sous l'action du bleu de Krésyl, cette enveloppe se teint en un bleu franc, et non violacé, mais cette coloration se dissipe assez vite lorsque le réactif est remplacé par de l'eau pure.

Ectoplasme.

La membrane souple dont nous venons de parler recouvre tout d'abord un plasma très-clair, qui partout tapisse d'une couche étroite la paroi interne de cette enveloppe, mais se montre accumulé en proportions beaucoup plus fortes à la partie antérieure du corps. Lorsque par compression on oblige cet ectoplasme à se faire jour par l'ouverture buccale et à se répandre au dehors, il apparaît sous forme d'une matière incolore, délicate et pure (fig. 7), dépourvue de granulations visibles, mais pourtant d'un aspect mat et comme poussiéreux; ce plasma, tenace, filant, s'étale d'abord en traînées, ou bien en fragments à contours amiboïdes accompagnés parfois de prolongements ou pseudopodes adventifs très-fins; puis ces fragments se rétractent sur eux-mêmes, et se mettent en boule, pour rester indéfiniment inertes.

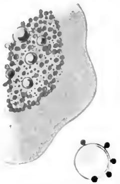


Fig. 7. Plasma sorti par compression. On voit la zône marginale d'ectoplasme, puis en dedans l'endoplasme avec gouttelettes d'huile, globules bleuâtres plus petits, et petits grains de Künstler (?). A droite, un des globules bleuâtres, plus grossi, avec grains de Künstler à sa surface.

C'est cet ectoplasme qui donne naissance aux pseudopodes, étroits, très-pâles, et caractéristiques de la subdivision des rhizopodes „filosa". La plupart du temps, et surtout chez des individus isolés dans une goutte d'eau claire et sous le couvre-objet, on n'en voit que deux ou trois, courts, qui timidement tâtent le terrain, ou bien se déplacent tout d'une seule pièce, ou deviennent variqueux et se retirent rapidement dans la coquille. Mais d'autres fois, et cela de préférence sur des sujets placés dans leurs conditions naturelles, c'est-à-dire entourés de toutes sortes de débris et dans leur eau d'origine, les pseudopodes se déployent nombreux et très-longs, en faisceaux, et revêtent alors une configuration qui leur est propre. Dans les thécamœbiens „filosa" en effet, les pseudopodes, bien que présentant dans toute la série des espèces une analogie générale, en ce sens qu'ils restent toujours minces, revêtent bien souvent des caractères de détail qu'on pourrait appeler spécifiques; tantôt plus étroits ou plus larges, tantôt plus ou moins ramifiés, et à types de ramification variés; c'est ainsi, pour prendre

un exemple extrême, que la Microgromia elegantula[1]) se distingue par la possession de pseudopodes extrêmement fins, très-droits, presque rigides en apparence, et couverts de distance en distance de petites granulations, de sorte qu'on serait tenté de croire à l'existence d'un fil axial interne pareil à ceux des héliozoaires. Or dans la Clypeolina les pseudopodes, à plasma pâle, mat, très-pur, sont caractérisés par le fait qu'on y trouve un tronc relativement fort, dont les ramifications restent très-minces et font avec le tronc un angle de peu d'amplitude (fig. 8); on pourrait les comparer aux branches d'un peuplier. Il faut ajouter cependant que ce n'est là que la configuration la plus habituelle dans les pseudopodes largement déployés, et qu'on pourrait appeler normale pour l'espèce; mais que cette configuration spéciale n'est pas nécessaire, et que bien souvent, par exemple, on est appelé à voir des bifurcations à deux branches égales.


Fig. 8. Pseudopode.

Lorsque le pseudopode se prépare à se retirer dans la coquille, il devient en général variqueux, et l'on voit des larmes de plasma courir vers la bouche, laissant même à nu quelque temps encore un fil extraordinairement fin qu'on pourrait prendre pour une tigelle axiale. Souvent aussi les pseudopodes se déplacent rapidement et tout d'une pièce, en plein liquide, ou bien sont sujets à des vibrations, et j'en ai observé un qui fut secoué sur toute sa longueur d'une vibration longitudinale analogue à celle que montre une corde que l'on agite par l'un de ses bouts.

Les pseudopodes prennent naissance sur une région d'une certaine étendue, et non pas seulement sur un point qui figurerait l'orifice buccal; cette bouche, allongée en fente, reste elle-même invisible, cachée par les deux valves qui, malgré le déploiement du faisceau pseudopodique, ne sont qu'à peine entr'ouvertes.

Endoplasme.

Immédiatement en dedans de cette couche de plasma clair, vient l'endoplasme, pâteux, très-compact; souvent, lors de la compression de la coquille, on le voit sortir sous la forme de boudins épais

[1]) Penard, Arch. f. Protistenk. Bd. III 1904 p. 417.

(fig. 9). Cette pâte tenace renferme alors différents éléments sur lesquels il faut nous arrêter un instant:

Ce sont d'abord des globules pâles (fig. 7), d'un bleu mat, de 3 μ environ de diamètre, toujours nombreux, parfois tellement qu'ils forment de beaucoup la majeure partie de la masse et qu'on les voit pressés les uns contre les autres. Ces globules, qui certainement n'ont rien à faire ni avec des grains d'amidon ni avec ce que l'on a appelé „corps brillants", paraissent consister en un simple protoplasme, nettement différencié en sphérules. Le bleu de Krésyl les colore en bleu, sans trace de violet, et cette coloration disparait peu à peu dans l'eau pure.

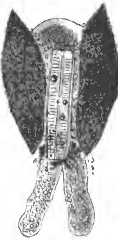


Fig. 9. Individu écrasé. On voit, par le côté, les deux valves écartées et laissant le corps en partie à nu; en bas, l'endoplasme sort par la bouche, sous forme de boudins.

Partout entre ces globules, et souvent agglutinés à leur surface, se voient, en quantités considérables mais variables d'un individu à un autre, des grains parfaitement sphériques (fig. 7), très-petits, de 0,5 μ à peine, plus nets et plus réfringents que les globules pâles dont il vient d'être question. Ces petits grains se colorent rapidement par le bleu de Krésyl en un bleu foncé, qui parfois semble tirer légèrement sur le violet, et cette coloration, bien que disparaissant petit à petit dans l'eau pure, est moins fugitive que sur les gros globules. Ce sont là, je suppose, les „sphérules de Künstler", que l'on connaît déjà dans un certain nombre de Protozoaires, et dont tout récemment Fauré-Frémiet s'est occupé d'une manière détaillée dans son étude sur le Cochliopodium pellucidum var. putrinum.[1]) Il ne m'a pas été possible, non plus qu'à cet auteur, de constater dans ces corpuscules la moindre apparence de phénomènes de division; bien que les ayant souvent examinés sous ce rapport, je les ai toujours vus parfaitement globuleux.

Un troisième groupe de globules se montrait figuré dans la Clypeolina par des sphérules brillantes (fig. 7), incolores ou

[1]) Archives d'anatomie microscopique t. 8 fasc. 1 1905.

plutôt tirant très-légèrement sur le jaune-verdâtre, insensibles à l'action du bleu de Krésyl, très-réfringentes sur leur bord, et dont le volume variait le plus souvent entre 3 et 6 μ. Ces sphérules, qui sous l'influence de l'acide osmique devenaient noires sur leur bord et d'un jaune sale noirâtre dans leur intérieur, étaient sans doute de nature huileuse, et même, comme elles se montraient identiques à celles que renfermaient les diatomées dont la Clypeolina faisait presque exclusivement sa nourriture, il n'y faut sans doute voir que des gouttelettes d'huile provenant de ces diatomées mêmes.

Il faut observer à ce sujet que, dans chacune de mes récoltes, tandis que dans les premiers jours qui suivaient la récolte ces sphérules brillantes se rencontraient dans le plasma du rhizopode en quantités souvent considérables, on les voyait diminuer peu à peu de nombre (comme d'ailleurs les diatomées elles-mêmes) à mesure que la récolte, au fond du bocal, perdait de sa fraîcheur et que les organismes y dépérissaient, si bien que le plasma finissait par n'en plus renfermer. Ces sphérules avaient-elles été digérées, ou bien l'animal les avait-il expulsées les unes après les autres comme objets de rebut? C'est cette dernière éventualité qui me paraît réunir le plus de probabilités, car jamais ces sphérules ne se voyaient incluses dans des vacuoles digestives.

La nourriture de la Clypeolina consistait à Bernex, nous l'avons dit, presque exclusivement en diatomées, et l'on en trouvait surtout une, allongée, plus grande que le rhizopode lui-même, et qui faisait parfois hernie à la partie postérieure du corps, par l'entrebaillement des valves, en repoussant devant elle l'enveloppe souple caractéristique de l'animal (fig. 3). Rarement le plasma se trouvait renfermer des proies d'une autre nature, par exemple de très-petites algues vertes se rapportant en apparence à la famille des Protococcacées.[1])

Le plasma renferme encore parfois quelques petites vacuoles puis, normalement, une vésicule contractile, dont la position est variable et qui peut se trouver aussi bien en avant qu'en arrière du noyau. Cette vésicule, que l'on ne distingue avec quelque netteté que sur des individus tout particulièrement clairs et transparents, grandit peu à peu, souvent par confluence avec des vacuoles plus petites qui se forment dans le voisinage, et peut atteindre un volume remarquable; mais les phénomènes caractéristiques de cet organe

[1]) La nourriture varie d'ailleurs sans doute avec la station; dans le lac de Genève, comme au Jardin Botanique, elle était différente.

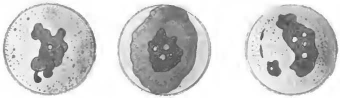
se passent ici avec une lenteur si extraordinaire, que c'est à peine si d'une heure à l'autre on trouve une différence appréciable dans le diamètre de la vésicule, et que cette derniére met peut-être une demi-journée à arriver à son état d'expansion maximum. Quant à la systole, je ne l'ai jamais vue se produire; la patience m'a décidément manqué; cependant j'ai pu constater l'absence de vésicule là où il y en avait une bien nette auparavant.

Cette paresse dans le fonctionnement de la vésicule pulsatile est donc tout-à-fait remarqnable, et je ne me rappelle pas avoir vu de rhizopode où cette lenteur se montre pareillement accentuée; et pourtant, sans doute aucun, c'est bien là une vésicule contractile typique, et non pas une vacuole quelconque. Peut-être faut-il attribuer ici quelque influence à l'état particulièrement dense et pâteux du plasma dans cette espèce; mais en même temps, me semble-t-il, il faut voir là avant tout une sorte d'idiosyncrasie, propre à cette espéce.[1])

[1]) On sait que, d'une manière générale, la vésicule contractile fonctionne avec d'autant moins d'activité que l'animal est moins actif aussi; mais en outre il existe, d'espèce à espèce, des différences pour ainsi dire physiologiques; dans les unes, et sans raisons particulières, le fonctionnement est rapide, dans d'autres il est lent. A ce propos, je me permettrai, par une digression qui n'a rien à faire avec l'organisme qui nous occupe actuellement, de signaler un fait que j'ai eu l'occasion d'étudier chez un Infusoire trouvé au fond du lac de Genève, à 20 mètres de profondeur, et qui rentre dans le genre Lembadion, bien qu'il ne m'ait pas été possible de l'assimiler au Lembadion bullinum, seul représentant, si je ne me trompe, du genre: M'étant aperçu que dans cet infusoire la vésicule contractile battait avec une rapidité extraordinaire, j'en isolai un exemplaire, puis, après avoir recouvert la goutte d'eau d'une mince lamelle sous laquelle l'animal ne pouvait se déplacer, je comptai les pulsations et j'arrivai au chiffre de 1 pulsation pour 2 secondes de temps; prenant ma montre à secondes, je la plaçai à côté de moi, je comptai 30 pulsations, et je m'assurai qu'il s'en fallait d'une seconde pour que l'aiguille eût de son côté fait le tour du cadran; je renouvelai l'expérience plusieurs fois de suite; toujours c'étaient de 30 à 31 pulsations par minute; le synchronisme des battements était pour ainsi dire aussi parfait que l'auraient été les oscillations d'un pendule. Un antre individu, examiné dans les mêmes conditions, me donna le même synchronisme, et le même chiffre de pulsations par minute. Il est à remarquer que ces animaux n'étaient nullement comprimés, juste suffisamment retenus entre les deux lamelles pour qu'il leur fût impossible de s'éloigner, et l'on ne pouvait constater chez eux aucune déformation; la compression a du reste pour effet de retarder les battements plutôt que de les accélérer. Cette observation était peut-être utile à connaître, parce que, d'après Rossbach et Maupas, la fréquence maximale des systoles a été trouvée chez les Infusoires égale à 3 secondes, et cela seulement à une température élevée. Cependant, Maupas cite d'autre part, dans Uronema nigricans, l'intervalle entre deux battements

Noyau.

Dans la Clypeolina l'on trouve, légèrement en arrière du point central du plasma, ou, plus rarement, au centre même, un noyau volumineux (fig. 10), légèrement ovoïde, quelquefois sphérique. Sur le vivant et à travers la coquille, on le distingue à peine, comme une tache arrondie un peu plus claire que le reste. Pour l'examiner dans ses détails, il est nécessaire de comprimer la coquille, et alors, arrivé au dehors et isolé en pleine eau, on le voit presque toujours plus ou moins fortement allongé; dans son passage par l'ouverture buccale, il s'est déformé. Il faut remarquer ici que, tandis que chez les Thécamœbiens en général le noyau une fois au dehors reprend dans la règle la forme normale qu'il avait perdue par le fait de la compression, ici il garde les déformations subies. Le fait est dû, je le crois, à la nature particulière du plasma nucléaire dans cette espèce; dans la Clypeolina, nous l'avons vu, tout est relativement visqueux, l'ectoplasme comme l'endoplasme, et alors le noyau a sa part également de cette viscosité spécifique. En le



a b c

Fig. 10. Noyau[1]; a, nucléole lobé; b, noyau après compression; on voit le suc nucléaire rétracté et laissant un espace vide entre lui et la membrane; c, nucléole fragmenté.

faisant rouler de part et d'autre, j'ai pu m'assurer qu'il se comportait à la manière d'une masse gélatineuse, tremblotante, rappelant un œuf de grenouille, et dans laquelle l'élasticité n'est que très-faible. Il n'est pas jusqu'au nucléole qui ne participe à cette viscosité particulière; en écrasant le noyau, on peut en faire sortir le nucléole, et, si l'on frotte ce nucléole en faisant glisser quelque peu

comme étant de 2 secondes, par 28° centigrades (voir BÜTSCHLI, Protozoa, p. 1453—1455). Dans mes expériences, qui sont du 13 Juin 1901, la température était de 13° centigr. environ.

[1] Pour obvier à une simple difficulté de dessin, ces trois noyaux ont été représentés sphériques; le plus souvent en réalité le noyau est légèrement ovoïde.

le convre-objet, on peut voir le plasma spécial qui le composait s'étirer en longs fils, dont l'une des extrémités reste collée au verre.

Sous une membrane fine, à double paroi bien visible, se voit la zône caractéristique de suc nucléaire, grisâtre, cendrée, renfermant de petites poussiéres, plus compacte dans cette espèce que dans la plupart des rhizopodes, et qui très-facilement se détache de la paroi nucléaire lorsque le noyau a été déformé, laissant alors nettement un espace vide entre elle-même et cette paroi (fig. 10b). Dans une position centrale et noyé dans le suc nucléaire dont il se différencie très-nettement à la vue, se trouve le nucléole, qui revêt dans cette espèce une apparence toute particulière: c'est un plasma compact et tenace, ramassé sur lui-même sous une forme que le plus souvent on ne pourrait mieux comparer qu'à celle d'une petite amibe; la masse générale du nucléole se creuse en effet de lobes, ou pousse des prolongements arrondis, souvent épaissis à leurs sommets (fig. 10a), ou bien recourbés sur eux-mêmes, parfois nombreux et allongés en boudins, même entortillés en apparence les uns dans les autres, de sorte que l'on croirait avoir sous les yeux des phénoménes de division, avec chromatine à l'état de prophase ou de spirème. Fréquemment aussi des lambeaux se coupent et se détachent du nucléole, pour rester isolés dans le suc nucléaire (fig. 10c). Au moment où, sous l'effet de la pression artificielle, le noyau s'échappe du corps, on peut, bien souvent, constater que le nucléole change rapidement d'apparence, se conduit comme une amibe dont les contours varient d'un moment à l'autre; mais ce phénoméne n'a pas de durée, il est sans doute passif, et dû à la compression même, et plus tard le nucléole garde parfaitement intacte sa forme plus ou moins tourmentée.

Dans l'intérieur du nucléole, on voit également des vacuoles, de vraies vacuoles, souvent bien rondes et bien nettes.

Sous l'action du bleu de Krésyl, le nucléole se colore instantanément en un magnifique bleu d'outre-mer, sans aucune nuance de violet, et qui tranche brusquement sur le suc nucléaire moins fortement coloré, d'ailleurs d'un bleu pur aussi.

Classification.

La Clypeolina marginata a été trouvée pour la première fois dans le lac de Genève, au mois d'Août 1900, et sa description remonte à 1902. Or cette description, fort courte bien que suffisamment précise pour la détermination de l'espèce, diffère par

quelques traits importants de celle que l'on vient de lire. Ces divergences remontent à deux causes: dans les eaux du Lémau, cet organisme ne se trouve qu'à l'état d'individus clairsemés, et dont je n'avais pu étudier qu'un petit nombre. Plus tard, sur les rivages du lac, puis dans la fontaine du Jardin Botanique, je l'avais retrouvé. il est vrai, en plus grande abondance; mais, occupé à cette époque de l'étude générale de tous les rhizopodes de nos environs, je n'avais voué à cette espèce qu'un temps nécessairement très-restreint; l'existence d'une enveloppe interne m'avait échappé, l'écartement possible des valves avaitété en réalité entrevu, mais j'avais cru là à une illusion de ma part. En second lieu, la forme du fond du lac, la première décrite, est certainement différente de celle de Bernex; c'est une variété, incolore, remarquable par sa tendance à étaler ses bords en une aile ou carène latérale laminaire, qui plaque contre la carène de la valve opposée, et qui donne ainsi à chaque valve l'appareuce d'un plat à barbe. Dans les cas extrêmes, ces différences autoriseraieut à croire à l'existeuce de deux espèces bien nettement distinctes; mais en réalité, si de Bernex on passe à la fontaine du Jardin Botanique. pour étudier plus tard les rivages, puis qu'on descende enfin dans les profondeurs du Léman, on voit se produire toutes les transitions possibles; comme pour d'autres rhizopodes. il y a, semble-t-il, au fond du lac une espèce en voie de formation, mais qui n'est pas encore fixée.

En 1902, décrivant le genre Clypeolina à la suite des Pseudodifflugia, je disais: „Parmi les espèces à pseudopodes filamenteux, et dont l'enveloppe n'est pas formée de pièces disposées symétriquement les unes à côté des autres, il en est quelques-unes qui présentent des traits assez caractéristiques pour qu'il y ait avantage à les séparer du genre Pseudodifflugia; et je proposerai le terme générique de Clypeolina pour les formes pourvues d'nne enveloppe fortement comprimée et munie sur tont son pourtour d'une carène aplatie.“ C'était alors cette carène qni m'avait paru devoir fournir les caractères les plus distinctifs du genre; mais aujourd'hui, après avoir étudié plus à fond cet organisme, et dans une station où l'on peut supposer que se trouve la forme spécifique normale, tandis que la forme du Léman constituerait plutôt une variété, il est nécessaire de modifier la diagnose primitive, et de donner pour le genre Clypeolina les caractères suivants: Corps revêtu d'une coqnille formée de deux valves égales, susceptibles de s'écarter l'une de l'autre, et possédant en outre une enveloppe interne membraneuse et souple.

Quant à la diagnose de l'espèce, elle deviendra la snivante: Coquille jaunâtre, elliptique, fortement comprimée, formée de denx valves creuses qui plaquent l'une contre l'antre, légèrement feutrées, et faites de particules siliceuses, irrégnlières, noyées dans une substance chitineuse. Enveloppe interne mince, souple, hyaline, ouverte à sa partie antérieure en un large orifice qni laisse passer les psendopodes. Noyau volumineux, à gros nucléole irrégulier dans sa forme. Vésicule contractile très-grande, très-lente dans son fonctionnement.

Longuenr, 120 à 135 μ en général; pouvant exceptionnellement descendre à 80 μ ou monter à 150 μ.

Über einige neue Arten gehäusetragender Rhizopoden des Süßwassers.[1]

Von

S. Awerinzew,

Leiter der Biolog. Station an der Murmanküste, Alexandrowsk, Gouv. Archangelsk.

(Hierzu 18 Textfiguren.)

Nachstehend teile ich die Beschreibung einiger neuer Arten von Süßwasserrhizopoden mit, welche von mir in verschiedenen Gewässern aus der Umgebung der Biologischen Station der Murmanküste gefunden wurden.

1. *Pyxidicula invisitata nov. spec.*

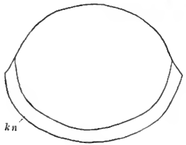


Fig. 1.

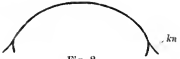


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Fig. 1—4. *Pyxidicula invisitata.* *kn* = Randsaum des Gehäuses; *bk* = Binnenkörper.

[1]) Anmerkung. Dieser Aufsatz bildet einen Auszug aus einer im Druck befindlichen, in russischer Sprache erscheinenden Monographie der Süßwasserrhizopoden des gleichen Autors.

Das Gehäuse von *P. invisitata* erinnert durch seine Gestalt durchaus an *P. cymbalum* Penard, indem seine Höhe geringer ist wie der Durchmesser, und die Mundöffnung die gesamte untere Fläche des Gehäuses einnimmt, so daß der Durchmesser des Gehäuses der Weite der Mundöffnung gleichkommt.

Mit Hilfe starker Vergrößerungen kann man einen wabigen Bau des Gehäuses unterscheiden (Fig. 3), indem man die Bilder optischer Längs- und Querschnitte miteinander kombiniert.

P. invisitata unterscheidet sich von *P. cymbalum* durch ihre unbedeutende Größe und vor allem dadurch, daß der das Gehäuse umfassende Saum bei der ersteren an dessen äußerer Oberfläche, in einiger Entfernung von dem Rande nach dem Gipfel zu angebracht ist. Infolgedessen stellt das Gehäuse von *P. invisitata* im Querschnitte einen Bogen dar, dessen Enden gabelförmig verzweigt sind (Fig. 1, 2). Der blasenförmige Kern enthält einen intranukleären Binnenkörper (Fig. 4).

Durchmesser der Schale von *P. invisitata* = 0,040—0,050 mm.

Hab. Sumpfige Bäche.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

2. *Lecquereusia angulata nov. spec.*

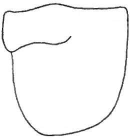


Fig. 5.



Fig. 6.

Fig. 5—6. *Lecquereusia angulata.*

Das unregelmäßige Gehäuse von *L. angulata* ist seitlich komprimiert.

Der kaum hervorragende lange Hals legt sich mit einer Seite an die Oberfläche des Hauptabschnittes des Gehäuses an (Fig. 5). Eine an die Biegung des Schwanenhalses erinnernde Krümmung ist bei *L. angulata* ebensowenig vorhanden wie bei *L. modesta* Rhumbl.

Die Oberfläche des Gehäuses ist mit länglichen, elliptischen oder

bohnenförmigen Plättchen bedeckt (Fig. 6); bisweilen finden sich auch unregelmäßig geformte, stäbchenartige Kieselelemente.

An derjenigen Stelle, wo sich der Ausgang aus der Höhlung des Halsteiles in diejenige des Gehäuses befindet, biegt die äußere Wandung dieses letzteren unter einem rechten Winkel um, was mich denn auch dazu veranlaßt hat, dieser Art ihren Namen zu geben.

Infolge der eigenartigen Einrichtung des Gehäuses ist es hier nicht möglich, diejenige Methode für die Angabe der Maße anzuwenden, welche für die übrigen Arten dieser Gattung angenommen ist.

Höhe des Gehäuses von *L. angulata* von der Spitze des durch seine äußere Wand gebildeten rechten Winkels bis zu der äußeren Mundöffnung = 0,100—0,145 mm; größter Querdurchmesser des Hauptteiles der Schale, von der Spitze des gleichen Winkels an gerechnet = 0,115—0,160 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

3. *Lecquereusia extranea nov. spec.*



Fig. 7.



Fig. 8.

Fig. 7—8. *Lecquereusia extranea.*

Das Gehäuse dieser Art erinnert einerseits in seiner Gestalt einigermaßen an *L. epistomium* Penard, andererseits repräsentiert dasselbe offenbar eine Übergangsform zwischen den Gattungen *Pontigulasia* und *Lecquereusia.*

Der Basalteil des Gehäuses ist von regelmäßiger, fast kugelförmiger Gestalt; der breite, nach oben zu etwas enger werdende Hals ist an der Basis ebenso erweitert, wie der Hals von *L. epistomium,* und der erweiterte Teil ist ebenso nach hinten, in der Richtung

nach dem Hauptteil des Gehäuses zu gewendet. Der Hals ist indessen nach oben gerichtet und die äußere Mundöffnung befindet sich fast in der Verlängerung der Hauptachse des Gehäuses, so daß die spirale Windung des Gehäuses bei dieser Art nur sehr schwach ausgesprochen ist (Fig. 7).

Das Gehäuse ist mit kleinen, länglich-runden Elementen bedeckt (Fig. 8); da diese letzteren sehr dick sind, stellt der optische Schnitt durch das Gehäuse von *L. extranea* eine bogenförmig ausgeschweifte Linie dar, wobei ein jeder Bogen dem Querschnitte eines der das Gehäuse bedeckenden Plättchen entspricht.

Länge des Gehäuses von *L. extranea* (bis zu der äußeren Mundöffnung) = 0.170 mm; Durchmesser des Hauptteiles des Gehäuses = 0,105 mm; Durchmesser der Mundöffnung = 0.030 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

4. *Difflugia septentrionalis nov. spec.*



Fig. 9.

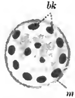


Fig. 10.

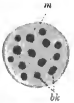


Fig. 11.

Fig. 9—11. *Difflugia septentrionalis.* *m* = Kernhülle; *bk* = Binnenkörper.

Das Gehäuse erinnert in seiner Gestalt sehr an einen Destillierkolben. Sein Halsteil ist scharf von dem übrigen Abschnitte des Gehäuses geschieden, weist in seinem ganzen Verlaufe den gleichen Durchmesser auf (etwa 0,030 mm) und ist nur in seltenen Fällen

etwas gebogen (Fig. 9). Die Länge des Halses ist im Vergleich zu dem Durchmesser des kugelförmigen Hauptteiles des Gehäuses sehr beträchtlich.

Die Oberfläche des Gehäuses ist von Diatomeenschalen verschiedener Größe bedeckt; die organische Substanz des Gehäuses ist von gelber Farbe und deutlich wabenförmigem Bau.

Es lassen sich drei protoplasmatische Zonen unterscheiden: eine alveoläre, aus welcher die langen, fingerförmigen Pseudopodien ausgehen, eine mittlere körnige, welche die Nahrungsteilchen und Exkretkörner enthält, und endlich eine dritte, stark färbbare perinukleäre Zone.

Nur eine kontraktile Vakuole.

Kern kugelförmig (Durchmesser = 0,018—0,025 mm), mit mehreren kugelförmigen oder etwas komprimierten Binnenkörperchen; diese letzteren sind entweder parallel zur Oberfläche des Kernes, oder ohne irgend eine bestimmte Regelmäßigkeit angeordnet (Fig. 10 u. 11).

Vor der Mundöffnung sind sehr oft Anhäufungen radiär angeordneter Diatomeenschalen zu bemerken, welche das Reservebaumaterial repräsentieren.

Länge des Gehäuses von *D. septentrionalis* = 0,160—0.200 mm; Durchmesser seines breiten kugeligen Abschnittes = 0.090—0.110 mm; Länge des Halses = 0,060—0.075 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

5. *Nebela spumosa nov. spec.*

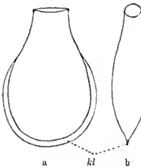


Fig. 12.

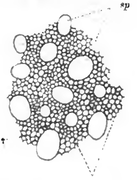


Fig. 13.

Fig. 12—13. *Nebela spumosa.*

kl = Kiel; *sp* = Plättchen des Gehäuses; *zs* = organische Substanz des Gehäuses.

Das stark komprimierte, fast überall gleich dicke Gehäuse von *N. spumosa* hat von seiner Breitseite aus betrachtet die Gestalt eines Destillierkolbens oder genauer ausgedrückt eines flachen Fläschchens mit kurzem cylindrischen Halse (Fig. 12). Die länglich abgerundete, vollständig gerade abgeschnittene Mundöffnnng ist von einem kleinen, etwas verdickten Saume aus organischer Snbstanz eingefaßt. Die Oberfläche des Gehäuses ist mit einer geringen Anzahl von runden und ovalen, sehr weit voneinander abstehenden Plättchen bedeckt, aus welchem Grunde die schaumige Struktur des Gehänses mit ungewöhnlicher Deutlichkeit zutage tritt (Fig. 13); diese Struktur kann ebensogut auf optischen Längsschnitten wie anch auf optischen Querschnitten untersucht werden. Das Wabennetz ist von seiner Oberfläche ans betrachtet sehr fein, so daß die Höhlungen der einzelnen Waben selten einen Durchmesser von mehr als 0,001—0,015 mm aufweisen.

Als besonders charakteristisch für diese Art erweist sich das Vorhandensein eines Kieles, dessen Breite außerordentlich stark variiert. Dieser Kiel beginnt entweder an der Basis des Halses, oder aber an der halben Länge des Gehäuses und verläuft gewöhnlich an dessen schmaler Seite über den Boden; doch wnrden auch Exemplare von *N. spumosa* angetroffen, bei welchen der Kiel nur an den Seiten entwickelt war.

Protoplasma, Pseudopodien und Kern unterscheiden sich in keiner Weise von den gleichen Teilen der anderen *Nebela*-Arten.

Länge des Gehänses von *N. spumosa* = 0,275—0,295 mm; Breite = 0,205—0,210 mm; Dicke = 0,045—0,050; größte Breite der Mundöffnung = 0,050—0,060 mm; Höhe des Halses = 0,025—0,035 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

6. *Nebela maxima nov. spec.*

Das sehr große, nicht komprimierte, birnenförmige Gehänse von *N. maxima* ist von gelblicher Farbe und erinnert auf den ersten Blick an *N. carinata*, allein abgesehen von der Größe und Gestalt des Gehänses zeichnet sich die neue Art ganz besonders durch ihren ungleichmäßigen, ausgebuchteten, gleichsam gefalteten Kiel aus, welcher seitlich das obere und mittlere oder nur das mittlere Drittel des Gehänses einfaßt.

Der Kiel besteht hauptsächlich aus organischer Substanz und nur hier und da liegen in demselben kleine Kieselplättchen zerstreut.

Bisweilen ist der Kiel vollständig wohlentwickelt, bisweilen aber trifft man in demselben Gewässer Gehäuse, welche *N. maxima* ganz ähnlich sehen, aber keinen Kiel besitzen,[1]) wobei es nur bei sehr genauer Untersuchung gelingt, Spuren eines solchen nachzuweisen[2]) (Fig. 14, 15).

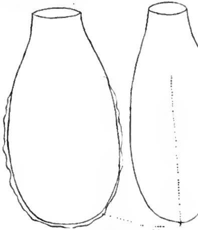


Fig. 14.

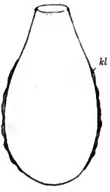


Fig. 15.



Fig. 16.

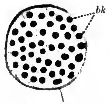


Fig. 17. *m*

Fig. 14—17. *Nebela maxima*. *kl* = Kiel; *vd* = verdickter Rand der Öffnung für den Austritt der Pseudopodien; *m* = Kernhülle; *bk* = Binnenkörperchen.

Dank der beträchtlichen Größe des Gehäuses berühren die einzelnen Kieselplättchen, welche dessen äußere Schicht ausmachen,

---

[1]) Ich fand n. a. einige Exemplare von *N. galeata* var. *tubulosa* Penard (Länge = 0,236—0,250 mm), welche außer dem gewöhnlichen halbkreisförmigen Vorsprung des Gehäuses mit einem schwach ausgeprägten, typisch plattenförmigen, an den Seiten des Gehäuses befestigten Kiel versehen sind. Höchstwahrscheinlich dürfen wir den Vorsprüngen, Auswüchsen, Kielen und anderen ähnlichen Gebilden keinerlei Wert beilegen, indem wir spezifische Merkmale aufstellen.

[2]) Ich fand auch ein Exemplar von *N. maxima*, bei welchem der Kiel dicht bei der Mundöffnung anfing.

einander nicht mit ihren Rändern; zwischen denselben bleiben beträchtliche Zwischenräume, durch welche die schaumige Struktur der organischen Substanz sehr gut zu beobachten ist.

Der Hals des Gehäuses weist zwar nicht überall den gleichen Durchmesser auf, so daß er nicht mit einem Kolbenhals verglichen werden kann, allein er ist dennoch mehr abgesetzt als bei *N. marginata* und *N. carinata*.

Die Mundöffnung hat die Form eines etwas in die Länge gezogenen Kreises; ihre Ränder sind etwas verdickt und gleichsam nach außen umgebogen (Fig. 16).

Bisweilen sind Poren vorhanden; ihre Ränder sind nicht verdickt, sondern nur etwas erhaben. Eine kontraktile Vakuole. Kern mit vielen Binnenkörperchen (Fig. 17).

Länge des Gehäuses von *N. maxima* = 0,280—0.325 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

7. *Nebela pulcherrima nov. spec.*

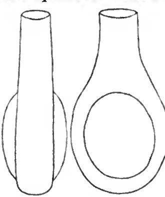


Fig. 18. *Nebela pulcherrima.*

Das Gehäuse von *N. pulcherrima* besitzt eine birnenförmige Gestalt mit wohlentwickeltem Halse, welcher nach der Mundöffnung zu allmählich enger wird. Eine Abflachung des Gehäuses ist nicht zu bemerken, und seine Mundöffnung hat die Gestalt eines fast regulären Kreises (Fig. 18).

Die Plättchen des Gehäuses sind von geringer Größe, oval oder rund und legten sich bei allen von mir gefundenen Exemplaren mit ihren Rändern etwas übereinander.

Bei der Bestimmung dieser *Nebela* stellt sich die Form der oberen Gipfelhälfte des Gehäuses als das charakteristischste Merkmal heraus, indem es sich erweist, daß sich auf jeder ihrer breitesten Seiten je eine große, völlig regelmäßig sphärische Auftreibung befindet, was an optischen Längs- und Querschnitten durch das Gehäuse besonders gut zu sehen ist.

Die Ränder der Mundöffnung sind nicht verdickt und ohne Lippen, indem sie ganz gerade abgeschnitten sind.

Eine kontraktile Vakuole mit homogener perinukleärer Protoplasmaschicht.

Kern kugelförmig, meist mit mehreren kugelförmigen Binnenkörperchen, obgleich Exemplare vorkommen, deren Kern nur einen oder zwei solcher enthält.

Länge des Gehäuses von *N. pulcherrima* = 0,180—0,195 mm; seine Breite = 0,100 mm; Dicke 0,050 mm. Durchmesser des Halses etwa 0,040 mm.

Hab. Sphagnum-Moore.

Rußland (Gouv. Archangelsk).

Die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Gehäuse bei den Süßwasserrhizopoden.[1]

Von

S. Awerinzew,

Leiter der Biolog. Station an der Murmanküste, Alexandrowsk, Gouv. Archangelsk.

(Hierzu 8 Textfiguren.)

Die primitiven, nur aus einer organischen Substanz aufgebauten Gehäuse sind stets einschichtig, aber nicht strukturlos, wie dies gewöhnlich angenommen wird; das Vorhandensein einer feinwabigen Struktur ist in einigen Fällen ohne weiteres zu bemerken (*Cochliopodium*, *Lieberkühnia*), in anderen Fällen (*Hyalosphenia*, *Ditrema*, *Gromia*) läßt sie sich durch Austrocknen nachweisen, d. h. durch rasche Verdunstung des Xylols, in welches das Gehäuse zuvor übergeführt wird, unter niederem atmosphärischem Druck. Überhaupt hat sich die Mikrostruktur der im Bestande irgend welcher Gehäuse auftretenden organischen Substanz in allen Fällen, wo ich eine solche genauer untersuchen konnte, stets als feinwabig erwiesen, wovon ich mich überzeugen konnte, indem ich Bilder aus optischen Flächen- und Querschnitten kombinierte (*Difflugia septentrionalis*, *Centropyxis aculeata*, *Nebela spumosa*).

Mit Ausnahme der primitiven Formen besteht der größte Teil der Gehäuse aus zwei Schichten: einer inneren, ungemein dünnen, welche aus organischer Substanz, wahrscheinlich mit einem unbedeutenden Zusatze von Kieselsäure besteht, und einer äußeren, welche

[1] Der nachstehende Aufsatz gibt eines der Kapitel aus einer Arbeit über die Süßwasserrhizopoden wieder, welche der Verfasser gegenwärtig in russischer Sprache veröffentlicht.

aus den verschiedenartigsten Materialien zusammengesetzt ist. Der Charakter der Gehäuse hängt hauptsächlich von den morphologischen und chemischen Eigentümlichkeiten dieser letzteren Schicht ab; dieselbe besteht entweder aus einer Reihe von Prismen (*Arcella*), oder aus Sandkörnchen, oder endlich aus durchsichtigen, verschieden geformten Plättchen; alle diese Bildungen sind durch ein organisches Bindemittel untereinander verkittet.

Indem wir zu der Betrachtung der einzelnen Elemente dieser äußeren Schicht übergehen, wollen wir uns vor allem die ungewöhnlich komplizierte Struktur der Gehäuse von *Arcella* klar machen.

Ehrenberg (1838, p. 133) vermutete, das Gehäuse dieser Rhizopode wäre durchwegs von Kanälchen durchsetzt; Wallich (1864, p. 12—13) beschrieb sechseckige Zwischenräume, welche durch ein symmetrisches Netz gebildet werden und längs welchen das Gehäuse von *Arcella* stets zerbricht; seit den Arbeiten von Hertwig und Lesser (1874, p. 94) und Bütschli (1875, p. 466) hat sich hierauf die Ansicht befestigt, daß das Gehäuse von *Arcella* aus zwei Schichten besteht: einer inneren, dünnen, strukturlosen und einer äußeren, aus hexagonalen, mit Flüssigkeit angefüllten, Prismen besitzenden Schicht, wobei Bütschli (1880—82, p. 20) diese Prismen mit den Plättchen von *Euglypha* homologisierte.

Penard (1890, p. 26) vermutete anfangs gleich Gruber (1881, p. 111), wir hätten es hier nicht mit Prismen, sondern mit Plättchen zu tun, welche durch eine chitinöse Substanz miteinander verklebt sind. Später kehrte dieser selbe Autor (Penard 1902, 394) zu der Auffassung Wallich's zurück, indem er die Ansicht aussprach, das Gehäuse der jungen *Arcella* bestände aus einer dünnen Hülle, an deren inneren Seite sich ein hexagonales Netzwerk von vorspringenden Leisten befindet: bei dem ferneren Wachstume des Gehäuses beginnt sich von dessen Innenseite eine spezielle organische Substanz mit beträchtlichem Eisengehalt (Chitin) abzulagern, welche sich vor allem an dem Systeme von Leisten ansammelt und schließlich eine zweite, innere Schicht der Hülle bildet; die auf diese Weise verschlossenen Alveolen nehmen die Gestalt von Prismen an und sind mit Wasser gefüllt.

Rhumbler (1896, p. 103) endlich nimmt an, daß die einzelnen, mit Flüssigkeiten gefüllten Prismen aus kleinen kugelförmigen Tröpfchen (Phäosomen) gebildet werden, welche durch eine organische Substanz miteinander verklebt sind.[1])

[1]) Kunstler (1903, p. 81 und Fig. 11) gibt bei seinen Untersuchungen über die Hüllen verschiedener Protozoen unter anderem auch eine schematische Zeichnung

Indem ich zu meinen eigenen Beobachtungen übergehe, muß ich vor allem bemerken, daß die äußere Gehäuseschicht bei *Arcella* nicht immer aus regulären hexagonalen Prismen besteht, sondern daß im optischen Querschnitte häufig unregelmäßige Dreiecke und Vielecke zu Gesichte kommen, welche bisweilen sogar einspringende Winkel aufweisen (Fig. 1).

Der Unterschied im Charakter der Färbung der Grenzen zwischen den Zellen und derjenigen ihres Inhaltes, welcher schon von Hertwig und Lessner beobachtet wurde, läßt sich natürlich durch den verschiedenen Brechungskoëffizienten derjenigen Substanzen erklären, aus welchen diese Teile bestehen.

Bei dem Studium optischer Querschnitte durch die Gehäuse von *Arcella*, und zwar am besten an Präparaten, welche mit einer schwachen Methylenblaulösung gefärbt wurden, kann man sich davon überzeugen, daß erstens nicht alle Prismen eine gleiche Höhe erreichen (Fig. 2), und daß zweitens bisweilen Zwischenräume auftreten, welche nicht von Prismen eingenommen sind, sondern nur unten von einer dünnen strukturlosen Hülle verschlossen werden.

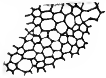


Fig. 1. *Arcella vulgaris.* Teil des Gehäuses von oben gesehen.

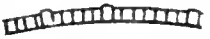


Fig. 2 *Arcella vulgaris.* Teil des Gehäuses im optischen Querschnitt.

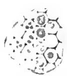


Fig. 3. *Arcella vulgaris.* Gehäuse nach der Behandlung mit Soda.

Indem ich die Versuche von Hertwig und Lesser mit dem Anfüllen der Prismenhöhlungen durch Kohlensäure unter aufeinanderfolgender Einwirkung von Soda und Essigsäure wiederholte, gelang es mir, in starken Sodalösungen das allmähliche Auftreten von hellen, mit Flüssigkeit gefüllten Vakuolen innerhalb der einzelnen Prismen zu beobachten, während deren ganze übrige Ausdehnung von einem mehr kompakten, schwach körnigen Inhalte angefüllt war; bei der ferneren Einwirkung von Soda nahm die Zahl der Vakuolen zu und diese letzteren zerflossen schließlich miteinander und erfüllten die gesamte innere Höhlung der Prismen (Fig. 3).

der Mikrostruktur des Gehäuses von *Arcella*, welche jedoch nichts weiteres wie eine optische Täuschung darstellt, der Wirklichkeit nicht entspricht und von dem Unterschied in den Brechungskoëffizienten der verschiedenen Bestandteile der Schale abhängig ist.

Läßt man eine starke Lösung von Eau de Javelle auf das Gehäuse von *Arcella* einwirken, so gelingt es allmählich (im Verlaufe von 2—3 Stunden), dessen gesamte Prismenschicht zu zerstören und die dunkle darunterliegende Hülle bloßzulegen, auf welcher man die Abdrücke der Prismen in Gestalt eines kaum bemerkbaren Netzwerkes aus polygonalen Zellen beobachten kann (Fig. 4). Um die Struktur noch genauer studieren zu können, wandte ich die Methode des Austrocknens (nach Bütschli) an. Das von seinem Protoplasma befreite Gehäuse von *Arcella* wurde allmählich durch verschiedenen Alkohol von bis zu 99,8 Proz. Stärke (inkl.) geführt, sodann in eine Mischung von Xylol und absolutem Alkohol verbracht und endlich in reines sorgfältig destilliertes Xylol mit einem Siedegrad von 136°—138° C. Hierauf wurde das Gehäuse entweder einfach an der Luft oder aber unter der Luftpumpe bei herabgesetztem Drucke getrocknet.

Das Bild, welches sich nach einer derartigen Bearbeitung des Gehäuses ergab, war sehr charakteristisch: die den optischen Querschnitt der Prismen darstellenden Vielecke treten außerordentlich scharf hervor, wobei sich einige ihrer Seiten als leicht einwärts gebogen erweisen (Fig. 5); bei niederer Einstellung des Mikroskopes erscheinen die Lücken zwischen den einzelnen Polyedern nicht durchwegs ihrer ganzen Länge nach dunkel, sondern man trifft in

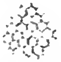


Fig. 4. *Arcella vulgaris*. Gehäuse nach der Behandlung mit Eau de Javelle.

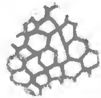


Fig. 5. *Arcella vulgaris*. Gehäuse, bei herabgesetztem Luftdrucke ausgetrocknet.

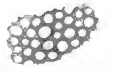


Fig. 6. *Arcella vulgaris* Gehäuse, getrocknet und sodann in Wasser gelegt.

denselben stellenweise kleine hellere Bezirke, welche von einer weniger stark lichtbrechenden Substanz erfüllt sind. Führt man hierauf solche Gehäuse wiederum in 100 proz. Alkohol oder in Wasser über, so beobachtet man folgende bemerkenswerte Erscheinung: die Polyeder verlieren fast augenblicklich ihr früheres Aussehen, ihre Ecken runden sich ab und in den zwischen ihnen bestehenden Zwischenräumen treten deutlich die Konturen schwach ausgesprochener, kaum bemerkbarer kleiner Zellen auf (Fig. 6).

Indem man die Gehänse zuerst mit einer sauren Pepsinlösung behandelt und sodann wenig verdünntes Eau de Javelle auf dieselben einwirken läßt, gelingt es bisweilen, die einzelnen Prismen voneinander zu isolieren, ohne ihren völligen Zerfall hervorzurufen.

Eine weitere Trennung der Elemente läßt sich verfolgen, indem man eine heiße, starke Lösung von KHO auf die Gehäuse von *Arcella* einwirken läßt; dabei lassen sich einige aufeinanderfolgende Stadien konstatieren: das Schwellen des Gehäuses, dessen Zerfallen in seine einzelnen Bestandteile in Gestalt kleiner Kügelchen und endlich die vollständige Zerstörung.

Indem man alle diese Angaben kombiniert, kann man sich vorstellen, daß die äußere Schicht des Gehäuses von *Arcella* auf irgend eine Weise aus einzelnen kugelförmigen Elementen zusammengesetzt wird, welche von einem speziellen organischen Bindemittel von wabigem Bau [1]) untereinander verkittet werden: indem diese Kügelchen gegenseitig einen Druck aufeinander ausüben, nehmen sie eine polygonale, prismatische Gestalt an, wobei ausnahmsweise zwei oder sogar drei derselben miteinander verschmelzen. Das Vorhandensein kleiner, von Prismen nicht eingenommener Räume von meist dreieckiger Form und mit nach innen vorgewölbten Rändern zwingt uns zu der Annahme, daß diese Gebilde nicht in Gestalt einer Schaumschicht, sondern eben in Gestalt einzelner Kügelchen oder Phäosome im Sinne Rhumbler's entstehen. Gleichzeitig mit ihnen entsteht auch die innere dünne Schicht, welche ihren chemischen Eigenschaften und ihrer Entstehungsweise nach vielleicht mit der die Körnchen zusammenkittenden Substanz übereinstimmt, was durch ihr Verhalten den Farbstoffen gegenüber bestätigt wird.

Am kräftigsten wird durch Methylenblau die wohlentwickelte innere Schicht gefärbt, weniger gut dagegen die Wandungen der Prismen, oder richtiger gesagt nur deren Zwischenlage. Augenscheinlich sind die Gehäuse von *Pyxidicula* und zum Teil auch diejenigen von *Centropyxis*, nach optischen Flächenschnitten und Querschnitten zu urteilen, nach einem gemeinsamen Plane mit Arcella gebaut, obgleich es wohl möglich ist, daß bei der letzteren dieser Rhizopoden das Gehäuse nicht von zusammengeklebten Kügelchen, sondern einfach von einer organischen Substanz mit schaumiger Struktur gebildet wird.

Zu den Gehäusen übergehend, bei welchen die obere Schicht

[1]) Diese Struktur ist an den Schalen von *Arcella apiculata* Schaudinn (Deutsch-Ostafrika, Bd. IV) ganz besonders deutlich zu sehen.

aus ungeformten fremden Körperchen oder aber aus geformten, ein Produkt der sekretorischen Tätigkeit des Organismus darstellenden Elementen gebildet wird, wird man vor allem beachten müssen, daß die Rhizopoda lobosa und die Rhizopoda filosa monostomata in dieser Hinsicht zwei durchaus parallele Reihen darbieten.

	Gehäuse zweischichtig; äußere Schicht aus Fremdkörpern bestehend.	Gehäuse zweischichtig: äußere Schicht aus den Produkten der sekretorischen Tätigkeit des Organismus bestehend.
Lobosa:	*Difflugia, Lecquereusia.*	*Lecquereusia, Quadrula, Arcella* (?).
Filosa monostomata:	*Pseudodifflugia.*	*Cyphoderia, Euglypha, Trinema.*

Auf den ersten Blick erscheint eine solche Einteilung unbedingt genau und leicht anwendbar; genauere Beobachtungen zeigen uns jedoch, daß wir es auch hier mit einem außerordentlich variablen und nur schwer zu bestimmenden Charakter der Gehäuse zu tun haben. Erstens treffen wir bei den Arten der Gattung *Difflugia*, welche die äußere Schicht ihrer Gehäuse für gewöhnlich aus Sandkörnchen und Schalen von Kieselalgen anfbauen, nicht selten unter letzteren Produkte der sekretorischen Tätigkeit der Rhizopoden selbst; dasselbe läßt sich auch auf *Pseudodifflugia* anwenden. Ferner besteht das Gehäuse von *Lecquereusia*, welches für gewöhnlich aus in ihrem eigenen Protoplasma entstandenen Plättchen der verschiedensten Formen aufgebaut wird, bisweilen aus fremden, von außen her gewonnenen Elementen.

Wallich, einer der ersten Forscher, welcher das polarisierte Licht bei der Untersuchung der Rhizopodengehäuse anwandte (1864, p. 19), bot damit eine sehr bequeme Methode für die Unterscheidung dieser ihrer Natur nach so verschiedenen Bildungen; später benutzte Rhumbler diese selbe Methode bei der Untersuchung von *Difflugia* (1896, p. 99).

Während die Sandkörnchen bei gekreuzten Nicols die Polarisationsebene drehen, erweisen sich die innerhalb des Protoplasmas der Rhizopoden entstandenen Gehäuseelemente unter gleichen Bedingungen als nicht unterscheidbar, indem sie keine doppelt lichtbrechende Eigenschaft besitzen. [1])

[1]) Das gleiche Fehlen der Befähigung, die Fläche der Polarisation zu drehen, fand ich (1903a, p. 489) auch bei den Kieselskeletten der Radiolarien, welche das Produkt der sekretorischen Tätigkeit des Organismus selbst darstellen.

Bei den Rhizopoda treffen wir folgende für den Bau der Gehäuse verwendete Sekretionsprodukte an: unregelmäßige, gleichsam aus einzelnen Kügelchen zusammengeklebte oder verzweigte, bisweilen aber auch bohnenförmige Körperchen, wie bei *Lecquereusia*: dünne, unregelmäßig vieleckige oder an den Ecken schwach abgerundete Plättchen, wie bei einigen *Difflugia*-Arten oder bei *Nebela*; reguläre quadratische oder rechteckige Elemente, wie bei *Quadrula*, oder endlich runde, doppelt gewölbte oder eingebuchtete runde Scheiben und Ellipsen, wie bei *Cyphoderia*, *Euglypha*, *Placocista*, *Assulina*, *Sphenoderia*, *Trinema* und *Corythion*.

Alle die soeben beschriebenen Elemente der äußeren Gehäuseschicht sind entweder so angeordnet, daß zwischen ihnen kleine Zwischenräume übrig bleiben, welche von der sie untereinander verkittenden Substanz eingenommen werden, oder sie schließen sich mit ihren Rändern dicht aneinander an, oder aber endlich legen sie sich mit ihren Rändern aufeinander, ähnlich wie Dachziegel, und zwar stets auf die Weise, daß die der Ausgangsöffnung nähergelegenen Plättchen den Rand der von der Ausgangsöffnung entfernter liegenden nächten Reihe bedecken.

Dank dem Umstande, daß sich zwischen den Rändern der Plättchen eine diese letzteren miteinander verklebende organische Substanz befindet, sind die Bedingungen für die Lichtbrechung an den verschiedenen Stellen des Gehäuses nicht die gleichen, was zu einer unrichtigen Erklärung ihrer Struktur führte; eine solche finden wir z. B. bei der Beschreibung des Baues der Gehäuse von *Cyphoderia*, welche, wie bisher gewöhnlich angenommen wurde, aus hexagonalen Täfelchen bestehen sollen (Fr. E. Schulze 1875, p. 110 ff.; Leidy 1879, p. 206, Taf. 35 Fig. 19, Taf. 36 Fig. 23; Rhumbler 1896, p. 48, Taf. 5 Fig. 7, 10, 14). Obgleich auch Rhumbler bei der Untersuchung von Gehäuseelementen, welche er mit Hilfe von H_2SO_4 und HCl isoliert hatte, sechseckige Plättchen beobachtete, glaube ich dennoch, daß diese Erscheinung durchaus nicht der wirklichen Struktur dieser Gebilde entspricht.

Das gleiche kann auch bezüglich der von Rhumbler (1896, p. 48) beobachteten „knopfförmigen Verdickung“, sowie über „die beiderseitige Einsenkung der centralen Plättchenteile“ an einigen Plättchen von *Cyphoderia* (Taf. I Fig. 9 u. 10) gesagt werden.

Was die Frage über den Ursprung und über die chemische Zusammensetzung der geformten Elemente der Rhizopodengehäuse betrifft, so besitzen wir hierüber vorerst keinerlei unanfechtbare, streng nachgewiesene Angaben. Die chemische Zusammensetzung

der Plättchen von *Euglypha*, *Cyphoderia* und andere Formen wurde meines Wissens noch niemals genügend eingehend beschrieben, so daß alle Autoren Vermutungen für Tatsachen annahmen. Die einen glaubten, wie z. B. Wallich (1864, p. 215), infolge der theoretischen Auffassungen über die Abstammung dieser Elemente von Diatomeenschalen, dieselben beständen aus Kieselsäure; andere, wie z. B. Fr. E. Schulze (*Cyphoderia*) (1875, p. 110) und Leidy (*Quadrula*) (1879, p. 143) bezeichneten sie als chitinöse Plättchen.

Auf Grund meiner eigenen Beobachtungen bin ich zu dem Schluß gekommen, daß die Plättchen, aus welchen die meisten Rhizopoda lobota (alle mit Ausnahme von *Quadrula irregularis*) und ein großer Teil der Rhizopoda filosa ihr Gehäuse aufbauen, ihrer chemischen Zusammensetzung nach sehr einförmig sind, da sie hauptsächlich aus Kieselsäure bestehen. Hiervon wurde ich vor allem durch deren Unveränderlichkeit bei der Einwirkung von Hitze und erhitzter starker anorganischer Säuren überzeugt. Das vollständige Verschwinden solcher Plättchen in starken, heißen Lösungen von KHO erweckte in mir jedoch einigen Zweifel bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung und veranlaßte mich, Reaktionen auf Kieselsäure zu versuchen, was ich denn auch mit den Gehäusen von *Lecquereusia*, *Euglypha* und *Cyphoderia* durchführte.

Auf den mit einer dicken Schicht zuvor überhitzten Kanadabalsams bedeckten Objektträger, oder noch besser auf ein dünnes Celloidinplättchen wurde ein gewisses Quantum der zu untersuchenden Gebilde verbracht, welche sodann der Einwirkung von Fluorwasserstoffsäure mit einem kleinen Zusatz von Kochsalz ausgesetzt wurden: nach einer Reihe von mißlungenen Versuchen erhielt ich endlich positive Resultate, welche auf die Anwesenheit von SiO_2 in den Gehäusen aller obenerwähnten Rhizopoden hinwiesen.[1])

Die Löslichkeit der Plättchen in starken kochenden Lösungen von Kalilauge widersprechen deren chemischer Zusammensetzung in keiner Weise, indem es bekanntlich zwei verschiedene Arten von wasserfreier Kieselsäure gibt: die eine — mit einem spezifischen Gewicht von 2,5, die andere — von 2,2: letztere wird unter anderem

[1]) Auf die Anwesenheit von Kieselsäure wird hingewiesen durch die Bildung mikroskopisch kleiner Kristalle von Na_2SiF_6 in Gestalt von Kombinationen aus Prismen und Pyramiden des hexagonalen Systems und ebenso in Gestalt sechseckiger Täfelchen. Die Bedingungen für den günstigen Verlauf der Reaktion bestehen in vollständigem Fehlen von Pseudochitin in den Gehäusen, sowie in dem genügenden Quantum sowohl der für die Reaktion verwandten Elemente, wie auch von HF und NaCl.

durch die Eigenschaft charakterisiert, sich in erhitzten Lösungen von Alkalien wenn auch langsam, aber doch vollständig aufzulösen.

Die Infusorienerde (Kieselgur, Tripel), welche ein Hydrat der Kieselsäure darstellt (mit einem spezifischen Gewicht von 2.2) ist ebenfalls sowohl in Alkalien, wie auch in Flußspathsäure verhältnismäßig leicht löslich.

Wir sehen demnach, daß die meisten der die obere Schicht ihrer Gehäuse aus Plättchen bauenden Rhizopoden die Fähigkeit besitzen, Kieselsäure zu akkumulieren,[1] welche in ihrem Protoplasma in Gestalt verschiedenartig konstruierter Elemente abgelagert wird. Die Frage, woher diese Kieselsäure stammt und in welcher Gestalt sie abgelagert wird, ist bis zu dem heutigen Tage unbeantwortet geblieben. Penard (1890, p. 19) vermutet mit Wallich, daß wir es hier mit veränderten Schalen von Bacillariaceen zu tun haben, andere Autoren, wie z. B. Rhumbler (1893, p. 339) nehmen an, daß flüssige Kieselsäure zwischen den Waben des Protoplasmas der Rhizopoden auftritt und, indem sie zusammenfließt, in Gestalt unregelmäßiger Stäbchen (*Lecquereusia*) oder regulärer, meist hexagonaler (?) und elliptischer Plättchen erstarrt (*Cyphoderia* und andere Formen, 1896, p. 103).

Bei der Besichtigung einer ganzen Reihe von lebenden *Lecquereusia epistomium*, wo die Elemente der Gehäuse ziemlich groß und von charakteristischer gekrümmt-elliptischer Form sind, fand ich mehrfach Exemplare, in deren Protoplasma die Reserveplättchen ihrer Größe nach durchaus nicht mit den Plättchen des Gehäuses übereinstimmten. Dies Verhalten brachte mich auf den Gedanken an ein allmähliches Wachsen solcher Gebilde. Um diese Frage zu entscheiden, stellte ich Messungen einer beträchtlichen Anzahl von Reserveelementen sowie auch fertiger Plättchen in den Gehäusen von *Lecquereusia epistomium* an, wobei ich zu der Überzeugung kam, daß in dem Protoplasma zuerst kleine Kieselsäurekörnchen auftreten, welche durch Ablagerung immer neuer Quantitäten von SiO_2 ununterbrochen an Größe zunehmen und bald die Gestalt und die Größe der ausgebildeten Gehäuseelemente annehmen (Fig. 7).

[1] Von großem Interesse ist die Tatsache, daß bei einigen Süßwasserrhizopoden, und zwar bei *Quadrula subglobosa* (*Quadrula irregularis*), Plättchen gefunden wurden, welche nicht Silicium, wie man dies erwarten müßte, sondern Calcium enthalten. Diese Entdeckung von Lagerheim (1902), welche später von Penard (1903, p. 262) bestätigt wurde, erfordert noch ein weiteres eingehenderes Studium. Mir selbst ist es leider kein einziges Mal gelungen, diese *Quadrula*-Art zu finden; bei *Quadrula symmetrica* dagegen bestehen die Plättchen stets, wovon ich mich mehrfach überzeugen konnte, aus Kieselsäure.

Während des Wachstums dieser Plättchen wird die Kieselsäure gleichmäßig auf ihrer gesamten Oberfläche abgelagert, wodurch der centrale Teil des Plättchens schließlich stärker verdickt erscheint als dessen Ränder; die Entstehung der Plättchen erfolgt, wie man annehmen kann, in der Art des Wachstums von Kristallen, und ich kann mich keinesfalls mit der Voraussetzung Rhumbler's von einem Verschmelzen der einzelnen Kieselsäuretröpfchen einverstanden erklären, obgleich sich durch diese letztere Annahme die Struktur der Gehäuseelemente bei *Lecquereusia spiralis* sehr gut erklären ließe. Da ich nicht die Möglichkeit besitze, genaue Beobachtungen über das Wachstum der Reserveplättchen bei dieser letzteren Rhizopodenart vorzunehmen, kann ich nur angeben, daß im allgemeinen die Kieselsäure beständig in sehr unbedeutenden Quantitäten ausgeschieden wird und sofort nach der Ausscheidung aus dem Protoplasma erstarrt. Die Kieselsäuretröpfchen, wenn solche sich überhaupt bilden, sind unserem (bewaffneten) Auge nicht zugänglich und es ist unmöglich, in ihnen jene Tröpfchen von SiO_2 zu erkennen, welche nach der Voraussetzung von Rhumbler zum Aufbau der Reserveplättchen von *Lecquereusia spiralis* verwendet werden. In diesem letzteren Falle verläuft wohl der ganze Prozeß am ehesten in der Art der Bildung von Kristalldrusen oder Kristallaggregaten, wobei die einzeln auftretenden Kieselkörner miteinander verschmelzen und dann mit neuen Schichten von Kieselsäure umgeben werden.



Fig. 7a—d.
Lecquereusia epistomium.
Allmähliches Wachstum der Reserveplättchen.

Obgleich die Gehäuse verschiedener Rhizopoden, welche aus Produkten der inneren Sekretion dieser Organismen aufgebaut werden, bisweilen zum Teil modifizierte Diatomeenschalen enthalten (wie z. B. die Gehäuse von *Lecquereusia* und *Nebela*), so sind doch solche Fälle durchaus nicht so häufig, wie dies für gewöhnlich angenommen wird. Ich habe häufig derartige Elemente unter den isolierten Bestandteilen von allen möglichen Gehäusen angetroffen, wobei es sich nach sorgfältigen Untersuchungen erwiesen hat, daß wir es hier mit wenigen Ausnahmen mit Körperchen zu tun haben, welche nur ihren Umrissen nach entfernt an Schalen von Bacillariaceen erinnern, während ihre Struktur in keinerlei Weise darauf hinweist, daß derartige Bildungen zu den erwähnten Algen gehören. Außerdem

werden, wie dies aus meinen ferneren Untersuchungen hervorgeht, in den Fällen, wo ein Mangel an fertigen Reserveelementen eintritt, unverdaute Nahrungsreste, in welchen hauptsächlich Diatomeenschalen enthalten sind, zum Aufbau eines neuen Gehäuses verwendet.

Es ist wohl möglich, daß die in das Protoplasma der Rhizopoden gelangten Diatomeenschalen darin aufgelöst werden, und daß ihre Kieselsäure sich später in Gestalt verschieden geformter Plättchen gleichsam wiederum auskristallisiert. Allein eine solche Entstehung der Kieselsäurebildungen ist nicht die einzig mögliche, da Kieselsäure stets im Wasser vorhanden ist, und zwar entweder in gelöstem Zustande oder aber in Gestalt suspendierter Teilchen irgend einer kieselsäurehaltigen komplizierten Verbindung, wie z. B. Ton.[1]

Von Interesse ist unter anderem die Abstammung der Elemente in den Gehäusen von *Heleopera* und *Nebela*; bei der letzteren dieser Rhizopoden haben sie das Aussehen quadratischer, runder oder elliptischer Plättchen und unregelmäßig konstruierter Stäbchen. Die einen Autoren, wie z. B. Taránek (1882, p. 15) vermuten, die erwähnten Elemente seien die Produkte der sekretorischen Tätigkeit des Protoplasmas von *Nebela*, andere, wie z. B. Penard (1890, p. 20 ff.), sind geneigt, darin Plättchen aus den Gehäusen anderer Rhizopoden zu sehen, welche zusammen mit der Nahrung in das Innere von *Nebela* gelangt sind.



Fig. 8.
Isolierte Plättchen aus dem Gehäuse von *Nebela sp.*

Indem ich die Elemente der Gehäuse von *Nebela* isolierte, fand ich zwischen ihnen auch die charakteristischen gezähnelten Randplatten von *Euglypha*, sowie die nicht weniger auffallenden Plättchen von *Quadrula* und *Lecquereusia* (Fig. 8). Ferner gelang es mir auch, einen Zusammenhang zwischen den das betreffende Gewässer bewohnenden Rhizopodenarten und den Elementen der Gehäuse von *Nebela* festzustellen: in denjenigen Gewässern, wo von den Arten der Gattung *Lecquereusia* nur *L. epistomium* vorkam, war in den Gehäusen von *Nebela* das Vorhandensein der leicht zu unterscheidenden Plättchen jener Art zu konstatieren; dieselbe Beobachtung wurde auch bezüglich *Quadrula*

[1] Es ist auch möglich, daß die kieseligen Elemente in den Gehäusen der Rhizopoda nicht allein aus Kieselsäure bestehen, wie dies auf den ersten Anschein der Fall ist, sondern eine komplizierte, organische, Si-haltige Verbindung darstellen.

angestellt. Indessen beobachtete ich mehrfach Exemplare von *Nebela*, deren Gehäuse aus unregelmäßigen vieleckigen Plättchen bestanden, welche, soviel mir bekannt ist, nicht in Gehänsen anderer Rhizopoden angetroffen werden, sowie aus Schalen von Diatomeen.

Hieraus kann man ersehen, daß infolge irgend welcher Ursachen gewisse *Nebela*-Arten ihre Gehäuse aus Kieselplättchen aufbauen, welche sich in ihrem Protoplasma gebildet haben, andere Arten dagegen aus Plättchen, welche in dem Protoplasma anderer Rhizopoden entstanden und mit der Nahrung in das Innere der *Nebela*-Arten gelangt sind.[1])

Bezüglich der Plättchen von *Heleopera* kann ich nur das gleiche aussagen wie oben, indem die Vertreter dieser Gattung sich größtenteils von anderen Rhizopoden ernähren, aus deren Gehäuseresten sie denn auch ihrerseits die äußere Schicht ihres eigenen Gehäuses aufbauen.

Ebenso finden wir auch bei *Difflugia* bald Gehäuse, welche durchweg aus Sandkörnchen gebildet sind, bald dagegen ganz oder zum Teil aus solchen Elementen bestehende Gehäuse, welche im eigenen Protoplasma der Rhizopode entstanden sind.

Unter anderem weist Penard (1890, p. 35) darauf hin, daß es ihm noch niemals gelungen sei, unter den Reserveplättchen von *Euglypha* Kieselnadeln aufzufinden, welche doch für die Gehäuse einiger Arten dieser Gattung so überaus charakteristisch sind. Dieser Autor spricht dabei die Vermutung aus, daß diese Nadeln später, erst bei der Bildung des neuen Gehäuses entstehen, und zwar auf andere Weise als dessen Plättchen. Ich kann mich jedoch mit Penard nicht einverstanden erklären, indem ich mehrere Male derartige Nadeln zusammen mit Reserveplättchen in dem Protoplasma einiger *Euglypha*- und *Placocista*-Arten gefunden habe. Allerdings waren solche Fälle sehr wenig zahlreich im Vergleich mit der Gesamtheit aller von mir untersuchten Exemplare von Rhizopoden, deren Gehäuse mit derartigen Nädelchen versehen sind, allein man muß dabei in Betracht ziehen, welche Schwierigkeiten es bereitet, diese Nädelchen aufzufinden und von der Menge von Plättchen und anderen Einschlüssen, welche das Protoplasma der Rhizopode erfüllen, zu unterscheiden. Von besonderem Interesse in dieser Hinsicht ist der von mir an *Euglypha ciliata* beobachtete Fall einer Teilung, wobei aus irgend welchen Gründen in dem Protoplasma des Tieres

[1]) Ich habe eine *Nebela maxima* gesehen, welche sieben Exemplare von *Trinema* verschluckt hatte.

nicht genügend Nadeln für das neue Gehäuse gebildet worden waren: die Nadeln wurden hier durch die gewöhnlichen ovalen Plättchen ersetzt, wie sie für den Bau der Gehäusewandung Verwendung finden.

Die meisten Forscher, welche sich mit dem Studium der Rhizopoden abgegeben haben, nahmen entweder das Vorhandensein von Chitin in deren Gehäusen für eine bewiesene Tatsache an, oder aber sie hielten an dieser Bezeichnung sogar noch dann fest, nachdem gewisse Reaktionen, wie z. B. die Löslichkeit in kochender KHO (mittlerer Konzentration), den chemischen Eigenschaften des Chitins nicht entsprochen hatten.[1])

Um die chemischen Eigenschaften dieser organischen Substanz, welche sowohl in Gestalt ganzer kompakter Hüllen, wie auch in Gestalt einer die verschiedenartigen für den Bau der Gehäuse verwendeten Elemente miteinander verklebenden und auskleidenden Masse auftritt, eingehender zu untersuchen, wählte ich eine Reihe von Rhizopodenformen — *Arcella*, *Difflugia*, *Centropyxis*, *Nebela*, *Hyalosphenia*, *Cyphoderia*, *Euglypha*, *Gromia* und *Ditrema* —, an welchen ich einige weiter unten beschriebene Reaktionen ausführte.

Indem ich vor allem die Wirkung der Hitze in verschiedener Stärke auf diese Formen anwandte, konnte ich das Vorhandensein einer mehr oder weniger beträchtlichen Quantität organischer Substanz in den Gehäusen aller dieser Rhizopoden feststellen, besonders leicht läßt sich das Verkohlen bei *Gromia*, sowie bei einigen Arten der Gattungen *Centropyxis*, *Difflugia* und *Ditrema* feststellen.

Ferner gelang es mir, gleich Penard (1890, p. 14, vgl. Rhumbler 1896, p. 99), mich davon zu überzeugen, daß, obgleich die organische Substanz der Gehäuse durch die Hitze zerstört wird, die ursprüngliche Gestalt dieser Gehäuse fast bei allen Arten unverändert bleibt und nur die feinste Struktur derselben leicht deformiert wird, oder eine neue, bis dahin unbemerkt gebliebene Struktur gebildet wird. Infolge dieses Umstandes muß ich mich natürlich mit der Schlußfolgerung von Penard einverstanden erklären, daß in diesem Falle sogar bei denjenigen Arten, wo für gewöhnlich keinerlei Anzeichen für die Anwesenheit von SiO_2 vorliegen, Kieselsäure dennoch vorhanden ist und die gesamte organische Substanz des Gehäuses durchtränkt.

Da das Protoplasma die Untersuchung erschweren konnte, wurde vor dem Erhitzen der Gehäuse, welches auf dem Objektträger oder auf Platinblech vorgenommen wurde, eine vorbereitende Bearbeitung

[1]) Rhumbler 1896, p. 43.

in künstlichem Magensafte mit nachfolgendem Auswaschen in schwacher KHO und destilliertem Wasser angewendet.

In einigen Fällen wurde die Temperatur bis zu einem solchen Grade gesteigert, daß das Deckgläschen zu schmelzen und sich leicht zu krümmen begann, wobei nur *Lecquereusia*, *Nebela* und *Sphenoderia* in die einzelnen, ihre äußere Schicht zusammensetzenden Elemente zerfielen. Wurde jedoch das Glühen auf Platinblech noch weiter fortgesetzt und die Temperatur noch mehr gesteigert, so zeigte sich in den einzelnen aus Kieselsäure bestehenden Elementen eine feinblasige Struktur, ihre Ränder begannen abzuschmelzen und bisweilen verschmolzen die Elemente miteinander zu einer formlosen Masse.

Bei der Einwirkung kochender 10—20proz. Lösungen von KHO und ebenso bei der Einwirkung von H_2SO_4 gelang es mir, die organische Substanz der Gehäuse vollständig zu zerstören [1]; in den meisten Fällen bleibt bei der Bearbeitung mit KHO von den Gehäusen nichts anderes übrig als Sandkörnchen (*Difflugia*, *Lecquereusia* und *Centropyxis*), dagegen konnte ich mich bei der Anwendung von kalter wie erwärmter H_2SO_4 von der Anwesenheit eines körnigen Rückstandes überzeugen, und zwar nicht bloß bei den Formen, in deren Gehäuse Sandkörnchen enthalten sind, sondern auch bei solchen, welche im Bestande ihres Gehäuses überhaupt keinerlei geformte Elemente besitzen (*Arcella*, *Hyalosphenia*). Diese Körner halte ich für feinste Teilchen der die organische Substanz des Gehäuses durchtränkenden Kieselsäure.

In diesem Falle bestätigen meine Versuche in vollem Maße die theoretische Auffassung von Penard und Rhumbler, welche bei den meisten Rhizopoden die Erhaltung der Gestalt des Gehäuses nach Erhitzung einer Verschmelzung der Quarzkörperchen zuschreiben.

Es ist mir nicht gelungen, bei diesen feinsten Teilchen die Reaktion auf SiO_2 anzuwenden, indem es zu viel Schwierigkeiten bereitet, eine für die Reaktion genügende Quantität dieses Niederschlages in reiner, von allen Beimischungen befreiter Gestalt zu gewinnen.

Die meisten Gehäuse, mögen sie nun aus organischer Substanz bestehen oder verschiedene andere Ablagerungen enthalten, sind

[1]) Um die organische Substanz mit kalter H_2SO_4 zu zerstören, muß man diese letztere sehr lange (mehrere Tage) einwirken lassen; rascher geht die Zerstörung bei Erwärmung vor sich. In dieser Hinsicht stimmen meine Versuche mit denjenigen von Rhumbler an *Cyphoderia* überein, welcher fand (1896, p. 51), daß die Gehäuse dieser Art bei der Einwirkung von kalter H_2SO_4 nur selten in die Plättchen zerfallen, aus denen sie bestehen.

entweder ganz farblos und durchsichtig, oder aber in verschiedenen Nuancen gelb (*Cochliopodium*, *Pseudochlamys*, *Pyxidicula*, *Arcella*, einige Arten von *Difflugia*, *Centropyxis*, *Hyalosphenia*, *Cyphoderia*, *Ditrema*, *Gromia*), braun (*Assulina*, *Arcella*) und sogar rosa gefärbt (*Heleopera*).

Indem ich die Gehäuse von *Arcella* und einigen *Difflugia*, *Hyalosphenia*, *Cyphoderia*, *Ditrema* der Einwirkung von 3—4 proz. HCl unterwarf, erzielte ich verschiedene Resultate: während *Arcella*, *Difflugia*, einige *Centropyxis* sowie *Cyphoderia* vollständig ihre Färbung verloren, blieb diejenige von *Hyalosphenia* und *Ditrema* ganz unverändert. Bei dem Glühen derartiger Gehäuse dagegen blieb umgekehrt die Färbnng bei *Arcella*, *Difflugia*, *Centropyxis* und *Heleopera* unverändert und wurde sogar bei einigen Exemplaren noch intensiver, indem sie in das Rotbraune überging, während *Ditrema* und *Hyalosphenia* nach und nach vollständig farblos wurden. Dies Verhalten veranlaßt mich zu der Vermutung, daß die Färbung der Gehäuse von sehr verschiedenen Ursachen abhängen kann.

Es war schon früher auf die Anwesenheit von Eisen in den Gehäusen von *Cyphoderia* hingewiesen worden (Rhumbler 1896, p. 32). Indem ich eine 10 proz. Lösung von Kaliumeisencyanür und eine gewisse Quantität von halb verdünnter konzentrierter Salzsäure auf die Gehäuse verschiedener Rhizopoden einwirken ließ, erhielt ich folgende Resultate: in den Gehäusen von *Difflugia* (selbst wenn dieselben farblos sind) und *Arcella* ist auf Grund der Bildung von Berliner Blau stets zweifellos Eisen in Gestalt einer Oxydverbindung vorhanden; dieselben Resultate, wenn auch mit weniger intensiver Färbung, wurden auch bei *Cyphoderia*, *Centropyxis* und bisweilen bei *Hyalosphenia*, *Nebela* und *Heleopera* erzielt. Bei *Ditrema* wiederum gelang es mir im Gegenteil kein einziges Mal, diese charakteristische Färbung zu erzielen. Von besonderer Wichtigkeit ist die Tatsache, daß es gelungen ist, Eisen zu konstatieren einerseits bei Formen, welche entweder ganz farblose, absolut durchsichtige Gehäuse besitzen, wie die *Difflugia*-Arten, nachdem dieselben gut ausgewaschen nnd ihres Protoplasmas beraubt worden waren, andererseits aber bei Formen, welche ihre gelbliche Farbe selbst bei der Einwirkung von HCl nicht verlieren, wie *Hyalosphenia*. Die gelbliche Farbe der Gehäuse beruht demnach bisweilen auf der Anwesenheit von Eisensalzen (*Arcella*), bisweilen aber ist sie augenscheinlich an besondere Eigenschaften der die Gehäuse zusammensetzenden organischen Substanz gebunden (*Ditrema*). Auf Grnnd ihrer Fähigkeit, Eisenoxydverbindungen abzusetzen, spielen die Gehäuse der Süßwasser-

rhizopoden eine nicht geringe Rolle in dem Haushalte der Natur, indem sie die lösliche Eisenoxydulverbindung in dessen unlösliche Oxydform überführen, welche wahrscheinlich ein Hydrat des Eisenoxyds ist. Den Übergang in der Färbung der Gehänse von *Arcella* von gelb zu rötlich beim Glühen, möchte ich der bei diesem Prozesse vor sich gehenden Wiederherstellung der Eisenoxydverbindungen zuschreiben.

Infolge der Angaben über den ungleichartigen Charakter der organischen Substanz in den Gehäusen beschloß ich, deren chemische Natur bei verschiedenen Rhizopodenformen genauer zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke wurde eine ganze Reihe von Reaktionen an den Gehäusen von *Arcella, Centropyxis, Difflugia, Cyphoderia, Ditrema* und *Gromia* versucht, und zwar: die Einwirkung von Verdauungsfermenten, Na_2CO_3, Ammoniak, Salpeter-, Essig-, Schwefel- und Salzsäure verschiedener Konzentration, die Millon'sche Reaktion, die Xanthoproteïnreaktion, die Reaktion auf abspaltbaren Schwefel und auf Cellulose.[1]) Es erwies sich hierbei, daß die Gehäuse der genannten Formen eine organische, stickstoffhaltige Substanz mit einer großen Menge abspaltbaren Schwefels enthalten, welche in künstlichem Magensafte unverdaulich, in Alkalien bei Erhitzung löslich ist, alle charakteristischen Reaktionen auf Eiweißverbindungen gibt und ihren Eigenschaften nach an das Ceratin erinnert; alle diese Eigenschaften zusammengefaßt veranlassen mich, die organische Substanz der Gehänse auf die Gruppe der Albuminoide zu beziehen und derselben den Namen Pseudo-Chitin zu geben. Selbstverständlich verhalten sich die Gehäuse der verschiedenen Formen den Wirkungen verschiedener chemischer Agentien gegenüber sowohl bezüglich der Zeitdauer als auch was die Intensität der Reaktion betrifft, nicht ganz in der gleichen Weise. Selbst verschiedene Exemplare ein und derselben Art verhalten sich nicht gleichmäßig denselben Reagentien gegenüber. Dies veranlaßt uns zu der Annahme, daß wir es hier (ebenso wie bei den Ceratinbildungen) mit einer Gruppe gleichartiger, außerordentlich veränderlicher chemischer Substanzen zu tun haben.

Es ist wohl möglich, daß die Ursache der mit dem Alter des Organismus stets zunehmenden Widerstandsfähigkeit des Pseudo-Chitins, wie ich sie für die Gehäuse verschiedener Arten nachgewiesen habe, in der allmählichen Polymerisation der Gehäuseteilchen zu suchen ist. Hiermit, glaube ich, wird man auch den

[1]) Awerinzew 1903, p. 351.

von RHUMBLER angegebenen Unterschied im Verhalten der ursprünglichen Kittmasse von *Difflugia acuminata* sowie der von diesem Autor bei einigen Exemplaren beobachteten sekundär ausgeschiedenen organischen Kittmasse der auflösenden Wirkung des Ätzkali gegenüber erklären können.

Literaturverzeichnis.

1903 AWERINZEW, S.: Beiträge zur Kenntnis der marinen Rhizopoden. Mitteil. zool. Stat. Neapel Bd. XVI.

1903a —: Über die Struktur der Kalkschalen mariner Rhizopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIV.

1875 BÜTSCHLI, O.: Zur Kenntnis der Fortpflanzung bei Arcella vulgaris EHRBG. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XI.

1880—82 —: Protozoa. (In BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. I Sarcodina.)

1838 EHRENBERG, C. G.: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen.

1881 GRUBER, A.: Die Teilung der monothalamen Rhizopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXXVI.

1874 HERTWIG, R. & LESSER, E.: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. X (Suppl.).

1903 KUNSTLER, J.: Notice sur les téguments des micro-organismes. Arch. d'anat. microscop. Bd. VI.

1902 LAGERHEIM, G.: Om Quadrula subglobosa LAGERH. Geolog. Fören. Förhandl. Stockholm Bd. XXIV.

1879 LEIDY, J.: Fresh-water Rhizopoda of North America. Rep. of the Unit. Stat. Geol. Surv. of the Territ. Bd. XII.

1890 PENARD, E.: Études sur les rhizopodes d'eau douce. Mém. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève Bd. XXXI, 2.

1902 —: Faune rhizopodique du bassin du Léman.

1903 — Notice sur les Rhizopodes du Spitzberg. Arch. f. Protistenk. Bd. II.

1896 (1895) RHUMBLER, L.: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. III, IV, V. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXI.

1875 SCHULZE, F. E.: Rhizopodenstudien. III—V. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XI.

1882 TARÁNEK, K.: Monographie der Nebeliden Böhmens. Abhandl. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wiss. VI. Folge Bd. XI.

1864 WALLICH, G.: On Structural Variation among the Difflugians Rhizopods. Ann. and Magaz. of Nat. Hist. 35. Bd. XIII.

Beiträge zur Kenntnis der Süßwasserrhizopoden.

Von

S. Awerinzew,

Leiter der Biolog. Station an der Murmanküste, Alexandrowsk, Gouv. Archangelsk.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Hierzu 2 Textfiguren.)

1. Über die Dimensionen der Rhizopodengehäuse.

Bei meinem Aufenthalte jenseits des Polarkreises bot sich mir die Möglichkeit, ein reichhaltiges Material an Rhizopoda testacea zu sammeln, auf Grund dessen ich die Tatsache feststellen konnte, daß die Dimensionen der Gehäuse bei den meisten Rhizopoden aus den Gewässern der kalten Zone durchschnittlich größer sind als bei den gleichen Arten aus den Gewässern der gemäßigten Zone. Das gleiche Verhalten wird man meiner Ansicht nach auch bei der Vergleichung der Rhizopoden aus Gewässern der gemäßigten und der heißen Zone feststellen können. Leider sind die in der Literatur mitgeteilten diesbezüglichen Angaben so spärlich, daß sie einstweilen keinerlei Schlüsse in bezug auf diese Frage zulassen.

Besonders deutlich konnte ich diese Ungleichheit in den Dimensionen der Gehäuse bei den verschiedenen Vertretern der Gattung *Nebela* durchführen, welche in ungeheurer Anzahl die Sphagnum-Moore der gemäßigten und der kalten Zone bewohnen; der Unterschied in den maximalen Dimensionen der Gehäuse bei ein und derselben Art dieser Gattung erreicht 30—40 μ und geht bei einzelnen Exemplaren sogar bis zu 80—90 μ. Außerdem habe ich in den Sphagnum-Mooren der Polarländer einige neue Arten der genannten Gattung gefunden, welche sich gleichfalls durch die bedeutenden

Dimensionen ihrer Gehäuse von den übrigen Arten der Gattung *Nebela* unterscheiden.

Ich vermute, daß die Erscheinung einer Zunahme der Dimensionen bei Tieren, welche kalte Gewässer bewohnen, im Vergleiche zu den gleichen oder zu nahestehenden Arten aus Gewässern mit höherer Temperatur auch bei Vertretern einiger anderer Tierklassen, nicht nur bei Protozoen, sondern auch bei Metazoen, beobachtet werden kann.[1])

2. Über die geographische Verbreitung der Süßwasserrhizopoden.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß die meisten Süßwasserrhizopoden typische Kosmopoliten sind, was u. a. schon längst von Greeff vermutet (1882, p. 75; 1888, p. 123) und später von Schewiakoff (1893) durch seine eingehenden Untersuchungen über die geographische Verbreitung der Protozoen des Süßwassers überhaupt bestätigt wurde.

Natürlich kennen wir unter den gehäusetragenden Süßwasserrhizopoden einige für Europa noch unbekannte Formen (so z. B. *Arcella apicata*, *Arcella oblonga* (?), *Nebela caudata*, *Nebela ansata*, *Difflugia fragosa*), allein ihre Zahl ist im Vergleiche zu der gesamten Anzahl aller bekannten Arten so gering, daß sie bei der Entscheidung der Frage über die geographische Verbreitung der Rhizopoda nicht berücksichtigt werden kann. Dazu kommt, daß das Verhältnis zwischen den in Europa bekannten und unbekannten Formen fortwährend geringer wird, indem z. B. erst kürzlich die bisher nur aus Amerika bekannte *Sphenoderia macrolepis* auch in Europa, und zwar in Rußland (Gouv. Novgorod) aufgefunden wurde.

Andererseits sind natürlich viele aus Europa beschriebene Arten einstweilen noch unbekannt für die übrigen Weltteile, aber eine derartige Erscheinung läßt sich leicht durch die ungeheuren Unterschiede in der Zahl der dem systematischen Studium der Rhizopoden gewidmeten Arbeiten in diesen Ländern erklären; außerdem ist zu berücksichtigen, daß sich dieses Mißverhältnis von Jahr zu Jahr immer mehr und mehr ausgleicht.

[1]) Leider wird eine eingehendere, sozusagen statistische Untersuchung dieser biologischen Erscheinung durch den Mangel an genügendem Material von Rhizopoden aus tropischen Gewässern bedeutend erschwert; aus diesem Grunde wende ich mich an alle diejenigen, welche derartiges Material besitzen und nicht beabsichtigen, dasselbe in der angeregten Weise zu verwenden, mit der Bitte, dieses Material an mich senden zu wollen. (Adresse: Alexandrowsk, Gouv. Archangelsk, Biologische Station.)

Indem wir den Kosmopolitismus aller Süßwasserprotozoen anerkennen, müssen wir nichtsdestoweniger auch den Umstand im Auge behalten, daß wir neben Formen, welche eine in der Tat kosmopolitische Verbreitung besitzen und in den Gewässern verschiedener Typen vorkommen, wie z. B. *Arcella vulgaris*, *Centropyxis aculeata*, *Euglypha alveolata*, *Trinema enchelys*, *Cyphoderia ampulla* u. a. m., auch noch Formen antreffen, welche ausschließlich Gewässer von genau festgestelltem Charakter bewohnen, wie z. B. *Nebela pl. sp.*, *Placocista spinosa*, *Ditrema flavum* und andere Vertreter der Rhizopoden der Sphagnum-Moore; diese letzteren Rhizopoden können demnach auch in den tropischen Ländern nur in dem Falle angetroffen werden, wenn hier Bedingungen vorliegen, welche der Entstehung von Sphagnum-Mooren günstig sind; umgekehrt könnten in den Polarländern die typischen Grundrhizopoden der Schweizerseen angetroffen werden, wenn die Polarseen denselben Charakter des Grundes und die gleichen Eigenschaften des Wassers aufweisen wie in der Schweiz usw.

3. Über die Ausscheidung klebriger Substanzen durch das Protoplasma der Rhizopoden.

Bei der Verkürzung und Zurückziehung der Lobopodien nimmt deren Oberfläche vor allem ein welliges, höckeriges Aussehen an, worauf sich in dem centralen Teile solcher Pseudopodien ein regelmäßig konturierter, zylindrischer, langsam an Länge ab und gleichzeitig an Dicke zunehmender Achsenteil absondert, welcher einigermaßen an den Centralstab in den Pseudopodien der Heliozoa und in den Epipodien einiger Rhizopoda testacea erinnert.

Das wellige Aussehen der Oberfläche bei den sich kontrahierenden Lobopodien läßt sich meiner Ansicht nach einerseits durch die ungleichmäßige Verkürzung ihrer äußeren und inneren Schicht erklären, andererseits aber durch die Ausscheidung von Tröpfchen einer klebrigen, schleimigen Substanz an der Oberfläche der Pseudopodien.

Eine besonders lebhafte Ausscheidung einer solchen Substanz ist an der Oberfläche der Lobopodien bei mechanischer Erregung derselben zu bemerken (vgl. Verworn 1889, p. 75 ff., Rhumbler 1898, p. 158—172). Derartige klebrige Ausscheidungen bilden sich jedoch, meiner Erfahrung nach, in allen Fällen, wo die Lobopodien der Rhizopoden bei ihrer Kontraktion fremde Gegenstände berühren. Man kann nicht selten beobachten, wie bei dem Kriechen auf dem

Objektträger das Ende der sich kontrahierenden Pseudopodien von *Nebela* oder *Difflugia* immer dünner und gleichsam gezähnelt werden, wobei von ihm aus lange, außerordentlich dünne Fäden einer schleimigen, klebrigen Substanz auslaufen, welche stellenweise an dem Glase ankleben; je kürzer die Pseudopodien werden, desto mehr nehmen natürlich diese Fäden an Länge zu, indem sie immer dünner werden und schließlich abreißen; dabei kontrahieren sich die von den Lobopodien infolge ihrer Elastizität abgerissenen Fadenenden augenblicklich und rollen sich zu kleinen Kügelchen auf, welche an dem Glase haften bleiben.

4. Die Kernmembran der Süßwasserrhizopoden.

Von der Anwesenheit einer Kernmembran bei den Rhizopoden kann man sich am besten an isolierten Kernen überzeugen, obgleich man dieselbe bisweilen nicht nur auf Ganzpräparaten, sondern auch bei dem Studium lebender Rhizopoden unter dem Mikroskop sehr deutlich sehen kann, letzteres besonders an nackten oder mit einem durchsichtigen Kieselgehäuse versehenen Rhizopoden.

Es ist sehr schwer zu entscheiden, wem diese Membran eigentlich angehört: dem Protoplasma, welches sich infolge besonderer hier obwaltender physischer Bedingungen an der Oberfläche des Kerns verdichtet hat, oder aber ausschließlich dem Kern, indem sie einen Bestandteil desselben ausmacht? Meiner Überzeugung nach ist die Kernmembran, wenigstens was die Süßwasserrhizopoden anbetrifft, protoplasmatischen Ursprunges. Stets färbt sich die Kernmembran bei einer Doppelfärbung sowohl nackter als auch gehäusetragender Formen in der gleichen Weise wie das dieselbe umgebende Protoplasma,[1]) mit dem Unterschiede nur, daß die Färbung der Membran intensiver ausfällt, da sie eine kompaktere Struktur besitzt, d. h. die Quantität des in ihren Waben enthaltenen Kernsaftes geringer ist.

Außer dieser protoplasmatischen Hülle besitzt der Kern noch eine andere, die eigentliche Kernmembran,[2]) welche außerordentlich dünn und strukturlos ist; diese Membran ist nichts anderes, wie die äußere Wandung der achromatischen, das Gerüst des Kernes bildenden Substanz. Wenigstens ist es mir gelungen, auf einigen Präparaten

[1]) Vgl. M. Zuelzer 1904, p. 244.

[2]) Meine Beobachtungen über das Vorhandensein einer doppelten, zweischichtigen Hülle bei den Rhizopoden werden, wie mir scheint, durch die Beobachtungen von Schubotz bestätigt, welcher bei *Amoeba blattae* eine zweischichtige Kernmembran konstatierte (1905, p. 18).

(*Amoeba proteus, Arcella vulgaris*) diese beiden Membranen zu sehen, wobei ich keine derselben für ein bei der Fixierung der Rhizopoden entstandenes Kunstprodukt halte (Fig. 1).

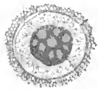


Fig. 1. Schnitt durch den Kern von *Arcella vulgaris*. *m* = protoplasmatische Hülle; *km* = Kernhülle; *bk* = Binnenkörper.

5. Die Encystierung der Süßwasserrhizopoden.

Bis jetzt herrschte die Auffassung, daß die Encystierung, d. h. die Bildung einer besonderen schützenden Hülle, sowohl bei den Protozoen überhaupt wie auch bei den Rhizopoden im speziellen, eine verschiedenartige Bedeutung haben kann und entweder zum Schutze des Individuums bei eintretenden ungünstigen Lebensbedingungen dient (die sogenannten Schutz- oder Ruhecysten) oder aber für die Fortpflanzung Dienste leistet (Fortpflanzungscysten).

Entgegen der Auffassung von M. Zuelzer (1904, p. 288), welche allerdings nur für *Difflugia* die Vermutung ausspricht, daß deren Cysten ausschließlich Fortpflanzungscysten darstellen, halte ich die frühere Auffassung von der Existenz von zweierlei Cysten — zum Schutze und für die Fortpflanzung — für die richtigere.

Sowohl die nackten, wie auch die gehäusetragenden Rhizopoden scheiden bei der Encystierung aus ihrem Protoplasma eine beträchtliche Menge von Wasser, Nahrungsresten und Reservematerial aus, welch letzteres bei dem Bau des neuen Gehäuses verwendet wird.

Die Ausscheidung von Wasser ist allen Rhizopoden bei der Bildung von Cysten jeder Art eigentümlich; es unterliegt keinem Zweifel, daß ein derartiger Verlust an Flüssigkeit den Verlauf derjenigen physikalischen und chemischen Prozesse verlangsamt, welche unter normalen Verhältnissen in dem Protoplasma vor sich gehen.[1])

[1]) Umgekehrt rufen bei dem „Erwachen" der Cyste die in derselben vor sich gehenden Assimilations- und Desassimilationsprozesse infolge einer Bildung neuer, im Wasser löslicher Substanzen das Eindringen einer gewissen Quantität von Wasser in das Protoplasma hervor, wodurch das Zerreißen der Hülle befördert wird

Diese Erscheinung ist naturgemäß mit einer Verringerung des Körperumfanges der Rhizopode etwa um die Hälfte verbunden, wobei die alveoläre Struktur des Protoplasmas infolge der Verminderung des Umfanges der Alveolen viel schwerer zu unterscheiden ist.

Parallel mit der Vorbereitung zur Encystierung treten, wovon ich mich durch eine Reihe von Reaktionen überzeugen konnte, in dem Protoplasma, oder richtiger gesagt, in den zu dieser Zeit entstehenden Waben der Chromidialsubstanz Glykogenkörnchen auf, welche ein bei der weiteren Entwicklung verwendetes Reservenährmaterial darstellen (*Difflugia pl. sp.*, *Nebela pl. sp.*, *Hyalosphenia*, *Heleopera*, *Quadrula*, *Trinema* u. a. m.).

Die meisten Rhizopoden encystieren sich innerhalb des Gehäuses, allein bei *Assulina* und *Sphenoderia* gelang es mir, eine Encystierung außerhalb des Gehäuses zu beobachten (Fig. 2), welche bis jetzt fast unbekannt geblieben war, mit Ausnahme der von Cienkowsky für *Platoum stercoreum* (1876, p. 43) und von Rhumbler für einige *Difflugia*-Arten (*Difflugia bicuspidata* 1891, p. 546) beschriebenen Fälle.

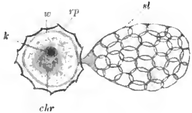


Fig. 2. Cyste von *Sphenoderia lenta*. *k* = Kern; *sl* = Gehäuse; *chr* = Chromidialsubstanz; *w* = innere Hülle der Cyste; *rp* = Reserveplättchen.

Dabei tritt das Protoplasma aus dem Gehäuse nach außen und umgibt sich dicht an dessen Öffnung mit einer Hülle, so daß die Cyste immer noch mit dem Gehäuse verbunden bleibt; in einigen Fällen tritt das Protoplasma jedoch ganz aus dem Gehäuse heraus und encystiert sich für sich allein. Die Cyste von *Sphenoderia* besitzt wie immer eine kugelförmige Gestalt und ist von einer doppelschichtigen Hülle umgeben, deren äußere Schicht aus Reservekieselplättchen, die innere dagegen aus organischer Substanz besteht.

In jenen Fällen, wo die Rhizopode sich innerhalb des Gehäuses encystiert, wird die Austrittsöffnung dieses letzteren meistens von einem besonderen Diaphragma verschlossen, welches entweder aus von dem Protoplasma ausgeschiedenen Nahrungsüberresten, oder aber aus Reserveplättchen aufgebaut wird, was bei verschiedenen *Nebela*-Arten besonders gut zu sehen ist, deren Diaphragma ein geschichtetes

Aussehen hat, indem es aus einer Menge mit einer organischen Substanz untereinander verklebter Kieselplättchen zusammengesetzt ist.

Wenn die Cyste nach der Kopulation zweier Individuen auftritt, welche bei ihrer Verschmelzung ein neues Gehäuse bauen, wie dies in einigen Fällen nach meinen Beobachtungen bei *Nebela*, *Assulina* und *Euglypha* der Fall ist, so wird natürlich kein Diaphragma gebildet, indem alle Reserveplättchen bereits Verwendung gefunden haben.

Die Cyste umgibt sich gewöhnlich mit einer ein- oder zweischichtigen Hülle. Bei *Nebela*, wo wir eine einschichtige Hülle fanden, ist dieselbe im Grunde genommen geschichtet, allein diese einander dicht anliegenden Schichten sind dermaßen dünn, daß es unmöglich ist, ihre Zahl festzustellen, welche überdies bei verschiedenen Exemplaren ein und derselben *Nebela*-Art offenbar nicht dieselbe ist.

Ein Strang, an welchem die Cyste gleichsam suspendiert ist, wurde einige Male bei *Euglypha* beobachtet; einen ebensolchen Strang, vermittels dessen die Cyste an dem Diaphragma befestigt war, fand ich auch bei einigen Exemplaren von *Nebela tubulosa* und *Nebela marginata*. Das Auftreten eines solchen Stranges läßt sich sehr einfach durch die Ausscheidung einer gewissen Menge von derjenigen Substanz, welche für die Bildung der Cystenhülle nach der Bildung des Diaphragmas verwendet wird, während der Zurückziehung des Rhizopodenkörpers in das Innere des Gehäuses erklären.

Bei *Lecquereusia spiralis* konnte ich Fälle von Encystierung beobachten, wobei eine unvollständige doppelte Hülle gebildet wurde, welche zum Teil von der Wand des Gehäuses ersetzt wird, dem das Protoplasma der Cyste mit einer seiner Seiten dicht anliegt; dabei wird die äußere Hülle aus Reserveplättchen, die innere dagegen aus organischer Substanz gebildet. Auf diese Weise entstehen die Ruhecysten; andere Arten von Cysten habe ich bei *Lecquereusia* nicht beobachten können.

Bis jetzt ist die Encystierung der Amphistomina nur sehr selten beobachtet worden, und zwar ist dieselbe, soviel mir bekannt ist, nur für *Diplophrys* (Cienkowsky 1876, p. 45) beschrieben worden: es ist mir gelungen, mehrere Male Cysten mit zweischichtiger Hülle bei *Amphitrema wrightiana* und *Ditrema flavum* zu beobachten.

Es kommt überaus häufig vor, daß man bei verschiedenen gehäusetragenden Rhizopoden die Bildung typischer Cysten nicht beobachten kann, da ihr Protoplasma, indem es Nahrungsteile und Wasser ausscheidet, oft an Umfang abnimmt und auf den apikalen Teil des Gehäuses beschränkt bleibt, wobei es sich von dem um-

gebenden Medium durch eine dünne strukturlose Hülle aus organischer Substanz absondert (*Euglypha, Quadrula, Placocista*). In einigen Fällen erinnert eine derartige Bildung der Cyste, wie ich dies bei *Quadrula* beobachten konnte, ihrer weiteren Entwicklung nach an jene Reproduktionscysten, welche von Scheel bei *Amoeba proteus* beschrieben worden sind (1899).

Literaturverzeichnis.

1876 Cienkowsky, L.: Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII.

1882 Greeff, R.: Die Capverdischen Inseln. Globus Bd. XLII.

1888 —: Studien über Protozoen. Sitz.-Ber. d. Gesellsch. z. Förd. d. ges. Naturw. zu Marburg 1888.

1891 Rhumbler, L.: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. I. Über Entstehung und sekundäres Wachstum der Gehäuse einiger Süßwasserrhizopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LII.

1898 —: Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. VII.

1899 Scheel, C.: Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. Festschr. f. C. Kupffer.

1893 Schewiakoff, W.: Über die geographische Verbreitung der Süßwasserprotozoen. Mém. d. l'Acad. d. Sc. de St. Pétersburg 7 ser. Vol. XLI N. 8.

1905 Schubotz, H.: Beiträge zur Kenntnis der Amoeba blattae (Bütschli) und Amoeba proteus (Pall.). Arch. f. Protistenk. Bd. VI.

1889 Verworn, M.: Psycho-physiologische Protistenstudien.

1905 Zuelzer, M.: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter. Arch. f. Protistenk. Bd. IV.

(Aus dem Zoologischen Institut Marburg.)

Über die Fortpflanzung von *Pelomyxa palustris* nebst Mitteilungen über ihren Bau.

Von

Karl Bott (Marburg).

(Hierzu Tafel III—IV und 1 Textfigur.)

Im Jahre 1866 fand Greeff im Poppelsdorfer Schloßweiher einen großen amöbenartigen Organismus, den er damals mit *Actinosphaerium* zusammen zu Teilungsversuchen benutzte, ohne vorläufig auf seinen Bau näher einzugehen. Ein Jahr später legte er ihm den Namen *Pelobius* bei. Die erste genauere Beschreibung erschien 1874, wobei Greeff gleichzeitig den Namen *Pelobius* durch *Pelomyxa palustris* ersetzte. Diese Beschreibung ist die ausführlichste, die bis heute über *Pelomyxa palustris* erschienen ist, und ich werde im Laufe meiner Abhandlung des öfteren Gelegenheit haben, auf die ausgezeichneten Beobachtungen Greeff's hinzuweisen. Nach Greeff behandelte F. E. Schulze im Jahre 1875 in seinen Rhizopodenstudien dasselbe Objekt und er konnte die Greeff'schen Befunde größtenteils bestätigen. Die Arbeit befaßt sich hauptsächlich mit der Fortbewegung von *Pelomyxa*. Bemerkenswert ist, daß F. E. Schulze wie Greeff die Kerne in verschiedenen Zuständen gesehen hat. Die Abbildungen, die er von diesen Kernen gibt, erinnern an bestimmte Phasen der Kernentwicklung bei der Fortpflanzung, die später noch eingehend erörtert werden sollen.

Im Jahre 1879 erschien in den „Archives de Zoologie expérimentale et générale“ eine Arbeit von KOROTNEFF: „Etudes sur les Rhizopodes“, worin auch *Pelomyxa palustris* behandelt wird. Es ist KOROTNEFF dann auch gelungen, die von GREEFF beschriebenen mutmaßlichen Fortpflanzungskörper der *Pelomyxa* wieder zu sehen und auch eine Ableitung derselben von den Glanzkörpern zu geben.

Die nächste Abhandlung über *Pelomyxa palustris* von LILIAN J. GOULD erschien im Jahre 1893. Ihre Untersuchungen geben ein gutes Bild des Aufbaues einer *Pelomyxa*.

Eine weitere Behandlung desselben Themas findet sich in BLOCHMANN's: „Kleine Mitteilungen über Protozoen“. M. HARTOG und A. E. DIXON haben Untersuchungen über die verdauenden Fermente bei *Pelomyxa* angestellt. O. ISRAEL berichtet über eigenartige Kontraktionserscheinungen bei *Pelomyxa* und geht näher auf die Struktur der Plasmamasse ein.

SCHAUDINN hat die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf *Pelomyxa* untersucht und PENARD erwähnt sie im Jahre 1900 als Bestandteil der Rhizopodenfauna des Genfer Sees.

Eine umfassendere Arbeit erschien 1900 von A. STOLC: „Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlehydrate in einem amöbenartigen Organismus, *Pelomyxa palustris* GREEFF“. STOLC führt in dieser Arbeit den Nachweis, daß die Glanzkörper der *Pelomyxa* aus einem Kohlehydrat, und zwar aus Glykogen, bestehen und als Reservenahrungsbehälter aufzufassen sind. Durch zahlreiche Fütterungsversuche zeigt er, daß in den Glanzkörpern Glykogen aufgespeichert wird, sie werden bei guter Fütterung größer und es werden im Plasma neue Glanzkörper gebildet. Umgekehrt werden die Glanzkörper bei Hungerperioden immer kleiner, bis ein gewisses Minimum erreicht ist, um dann bei erneuter Nahrungszufuhr wieder anzuschwellen.

Von neueren Arbeiten sind noch besonders zu erwähnen: PENARD: „Faune rhizopodique du bassin du Léman“ und GOLDSCHMIDT: „Die Chromidien der Protozoen“. Auf beide Arbeiten werde ich später noch näher einzugehen haben.

Außer den hier erwähnten Arbeiten liegen noch verschiedene weniger wichtige Angaben von verschiedenen anderen Forschern vor, wie z. B. von ENGELMANN, LEIDY, H. V. WILSON und GRUBER. LEIDY gibt einige sehr gute Abbildungen von *Pelomyxa*, während GRUBER das Tier besonders hinsichtlich etwaiger Kernteilungen untersucht hat, ohne jedoch in dieser Richtung irgendwelche positive Resultate zu erhalten.

Material und Untersuchungsmethoden.

Im Herbst 1904, als ich meine Untersuchungen begann, entnahm ich sämtliches Material einem kleinen Tümpel des hiesigen botanischen Gartens und hatte oft eine reiche Ernte. Die Tiere kamen dort bis Ende November sehr häufig und in ziemlich großen Exemplaren vor. Ein Teil der in großen Standgläsern gefangenen Tiere wurde immer sofort konserviert, während der Rest in den Gläsern blieb, die dann im Aquarium des Instituts aufgestellt wurden. Die Kulturen überwinterten auf diese Weise sehr gut, wenn auch die Tiere Ende Januar nicht mehr allzu häufig waren. Auch draußen im Freien fanden sich im Februar und März nur verhältnismäßig wenige *Pelomyxen*, entgegen den Angaben Greeff's, daß sie gerade im Frühjahr besonders häufig sein sollten. Allerdings scheint hier ein anderer mir unbekannter Umstand mitgespielt zu haben, denn auch im Herbst vorigen Jahres fand ich im Gegensatz zum Vorjahr an der betreffenden Örtlichkeit fast gar keine *Pelomyxen*, während sie an anderen Stellen ziemlich häufig waren.

Die Untersuchungen an lebenden Tieren wurden gewöhnlich in Uhrschälchen oder feuchten Kammern ausgeführt. Die in den gebräuchlichen feuchten Kammern im hängenden Tropfen gehaltenen *Pelomyxen* lebten meist nicht länger als zwei Tage, so daß es nicht möglich war, auf diese Weise irgendwelche Resultate zu erzielen. Weit besseren Erfolg hatte ich durch folgendes Verfahren. Einige *Pelomyxen* wurden auf einen Objektträger gebracht und mit einem durch Wachsfüßchen gestützten Deckglas bedeckt, so daß zwischen Deckglas und Objektträger genügend freier Raum für eine ungehinderte Bewegung der Tiere blieb. Durch Nachfließenlassen von Kulturwasser konnte dann der Zwischenraum leicht ganz ausgefüllt werden. Diese Kulturen wurden unter einer Glasglocke mit Wasserabschluß gehalten und täglich mit frischem Kulturwasser versehen. Es gelang mir auf diese Weise einige *Pelomyxen* bis zu 20 Tagen zu halten. Die Kulturen haben den Vorteil, daß sie leichter zu kontrollieren sind als andere in Uhrschälchen oder kleinen Gläschen, wie Stolc sie anwandte.

Die Konservierungen der *Pelomyxen* wurden vorgenommen mit Sublimat, Sublimat-Alkohol-Eisessig, Zenker'scher Lösung, Flemming-scher Lösung (Chrom-Osmium-Essigsäure) und besonders mit Osmiumsäuredämpfen. Sublimat und Zenker'sche Lösung ergaben weniger gute Resultate, während Osmiumsäuredämpfe und Flemming'sche Lösung besonders die Kernstruktur ganz vorzüglich konservierten.

Die Tiere wurden nach der Konservierung und Härtung in Alkohol in Paraffin eingebettet und meistens in 3 oder 4 μ dicke Schnitte zerlegt. Zur Färbung dieser Schnitte wurde in den meisten Fällen Heidenhain'sches Eisenhämatoxylin verwandt. Diese Färbung ist allen anderen vorzuziehen, weil sie die klarsten Bilder liefert. Gute Resultate erhielt ich auch mit Gentianaviolett-Eosin und Safranin-Gentianaviolett-Orange G. Das Schneiden der Tiere war wegen der immer in ihnen vorhandenen Steinchen oft mit Schwierigkeiten verbunden, und die Schnitte wurden häufig durch die Steinchen zerrissen.

Biologisches.

Pelomyxa palustris findet sich in stehenden Gewässern am häufigsten in den oberen Schlammschichten, seltener an Pflanzen oder an der Oberfläche. In den Kulturen findet man sie öfter an den Glaswänden hinaufkriechend, besonders dann, wenn die Kulturen schon längere Zeit gestanden haben, ohne daß frisches Wasser nachgefüllt worden ist. Der Grund dieses Emporkriechens dürfte wohl Sauerstoffmangel am Boden des Gefäßes sein, denn in Kulturen, die Wasserpflanzen enthielten, fand ich niemals Pelomyxen an den Wänden. Dieselbe Beobachtung hat auch schon Blochmann gemacht, daß die Tiere bei Sauerstoffmangel an den Wänden in die Höhe krochen, sobald er aber durch Einsetzen eines Zweiges von *Elodea canadensis* den Sauerstoffgehalt des Wassers erhöht hatte, ruhig am Boden blieben. Auch die von Blochmann beobachtete Lichtempfindlichkeit der Pelomyxen kann ich bestätigen. Die Tiere waren selbst im Schlamm immer an der vom Licht abgekehrten Seite am häufigsten und krochen auch nur an dieser Seite an den Wänden hinauf.

Die aus den Kulturen frisch entnommenen Tiere sind meist zu Kugeln zusammengezogen, beginnen jedoch sehr bald wieder mit der Bildung von Pseudopodien. Zuerst zeigt sich an irgend einer Stelle des Körpers eine kugelige Vorwölbung hyalinen Plasmas, in die dann auch Körnchenplasma einströmt und sie dadurch weiterschiebt. Die gewöhnlichste Form der Bewegung ist die, daß ein dickes Pseudopodium nach einer Richtung vorausfließt und der übrige Körper folgt. Die Gestalt der Tiere ist dann birnförmig. Wird die Bewegungsrichtung gewechselt, so wird das erste Pseudopodium eingezogen und nach der neuen Richtung in derselben Weise wie vorher ein neues gebildet. Neben dieser Art der Pseudopodienbildung konnte ich zuweilen noch andere beobachten, die jedoch nur in bestimmten Fällen aufzutreten scheinen. Einmal ist dies die

Bildung vieler dicker Pseudopodien, wodurch das Tier dann verzweigt erschien, die aber nur auftraten, wenn Pelomyxen im Uhrschälchen oder auf dem Objektträger ohne Nahrung isoliert wurden. In verschiedenen anderen Fällen beobachtete ich dann an großen Tieren ganz dünne Pseudopodien, die bei schwacher Vergrößerung wie Härchen erschienen, bei stärkerer Vergrößerung sich jedoch als geweihartig verzweigte Pseudopodien erwiesen. Diese Art der Pseudopodien trat nicht im ganzen Umfang des Körpers auf, sondern nur an einzelnen Stellen, ist aber nicht zu verwechseln mit den von Greeff, Leidy u. a. beschriebenen Gebilden am einen Körperende. Die von Blochmann beschriebenen starren cilienartigen Gebilde, die über die ganze Oberfläche verteilt sein sollen, konnte ich trotz eifrigen Suchens nirgends entdecken.

Bau.

Plasmastruktur. *Pelomyxa palustris* zeigt in verschiedenen Stadien der Entwicklung auch verschiedene Plasmastruktur. Bei einer *Pelomyxa* im gewöhnlichen Zustand besitzt das Protoplasma ein ziemlich feinwabiges, fast regelmäßiges Aussehen. In den Knoten und Wänden des Maschenwerkes liegen dann die vielen Kerne, Glanzkörper, Bakterien und Nahrungsballen regellos zerstreut. Sobald indessen die Kernveränderungen eintreten, d. h. die *Pelomyxa* sich zur Fortpflanzung anschickt, ändert sich das Aussehen des Plasmas. Man kann jetzt in den meisten Fällen zwei Zonen unterscheiden, ohne daß jedoch zwischen beiden eine deutliche Grenze zu ziehen wäre. Die mittlere Partie des Körpers ist erfüllt von einem sehr grobmaschigen Plasma mit großen Vakuolenräumen, während die äußere Schicht mehr den feinwabigen Bau beibehalten hat. Was die sonstige Differenzierung in ein hyalines Außenplasma und ein körnchenreiches Innenplasma, sowie deren Beziehungen zueinander betrifft, so möchte ich hier auf die Arbeiten von Greeff, Gould, Blochmann und Israel verweisen.

Kerne. *Pelomyxa* ist vielkernig; die Kerne liegen regellos im Plasma zerstreut und zeigen im Ruhezustand typisch bläschenförmiges Aussehen. Der größte Teil der chromatischen Substanz liegt in kleinen rundlichen Brocken der Oberfläche an. Im Innern zeigt der Kern ein deutliches Kerngerüst aus zarten Fäden, in deren Knoten nur kleine Chromatinpartikelchen suspendiert sind. Extranukleäres Chromatin oder ein Chromidialnetz konnte ich in diesem Zustand der *Pelomyxa* nicht finden. Dies tritt erst auf, wenn die Tiere zur Fortpflanzung schreiten oder Kerndegenerationen durch Hunger ein-

treten. Es kommt dann vor, daß Kerne sich ganz auflösen und ihr Chromatin sich in Form kleinerer oder größerer Brocken, Chromidien, im Plasma zerstreut. Auf diese Erscheinungen werde ich an anderer Stelle noch näher einzugehen haben.

Glanzkörper. Ein wichtiger Bestandteil des Pelomyxenkörpers sind die Glanzkörper, wie sie von Greeff wegen ihrer starken Lichtbrechung bezeichnet wurden. Ich habe diesen Gebilden meine besondere Aufmerksamkeit gewidmet, weil in bezug auf ihre Deutung die Meinungen der einzelnen Forscher weit auseinander gehen.

Greeff vertritt die Ansicht, daß die Glanzkörper wohl als die „Zoosporen" der *Pelomyxa* aufzufassen und von den Kernen herzuleiten seien. In den Kernen sollen nämlich nach Greeff zuweilen größere Kernkörper auftreten, die ein „punktförmiges Centrum" zeigen. Diese Kernkörper sollen dann immer mehr heranwachsen, schließlich die Kernmembran sprengen und ins Plasma übertreten. Während dessen soll sich dann auch das Centrum vergrößert haben und als Höhlung zu erkennen sein. Nach dem Austritt aus dem Kern soll dann diese Höhlung immer mehr an Größe zunehmen, so daß schließlich von der umhüllenden Substanz nur noch ein dünner Ring bliebe, der aber zuletzt auch noch verschwinden soll. Die Höhlung hätte sich zum Glanzkörper entwickelt. Ganz sicher erscheint jedoch Greeff diese Entwicklung nicht, denn er schreibt selbst, daß er des öfteren sehr kleine Glanzkörper frei im Plasma der *Pelomyxa* gefunden habe, ohne daß die Kerne eine Veränderung zeigten.

Zu der Annahme, daß die Glanzkörper die Zoosporen der *Pelomyxa* darstellten, kam Greeff durch eine merkwürdige Beobachtung. Eines Tages sah er aus dem Körper einer *Pelomyxa* eine große Schar kleiner Amöben herauskommen, die alle einen Kern und eine kontraktile Vakuole zeigten. Die kleinen Amöben bewegten sich einige Zeit unter Bildung von Pseudopodien, kamen aber schließlich zur Ruhe und bildeten nach kurzer Ruhepause eine Geißel aus, mit deren Hilfe sie davonschwammen. Greeff wirft nun die Frage auf, erstens ob diese Amöben Entwicklungszustände der *Pelomyxa*, und zweitens ob sie aus den Glanzkörpern entstanden seien.

Beide Fragen glaubt er bejahen zu können. Es scheint ihm unmöglich, daß die *Pelomyxa* die Keime dieser, vielleicht als parasitisch zu betrachtenden, Amöben in sich aufgenommen und diese sich in ihr entwickelt hätten. Vielmehr glaubt er sicher annehmen zu dürfen, daß bei der großen Zahl der Amöben es sich wirklich

um Entwicklungszustände, also Fortpflanzungskörper der *Pelomyxa* handelte. Die zweite Frage schien Greeff dadurch gelöst, daß er im Innern der *Pelomyxa* nur noch wenige typische Glanzkörper vorfand, wohl aber viele blassere Gebilde, die, wie er schreibt, den entleerten „Kapseln" der Glanzkörper ähnlich sahen. Er glaubt also, daß der Glanzkörperinhalt jene Amöben gewesen seien, die innerhalb der Pelomyxa ausgeschlüpft und dann auch aus dieser hervorgebrochen seien.

Lilian J. Gould läßt sich über die Bedeutung der Glanzkörper nicht weiter aus. Sie bestätigt nur den auch von Greeff schon konstatierten homogenen Bau, hat aber niemals in ihnen ein kernähnliches Gebilde gesehen. Nach ihrer Ansicht kommt den Glanzkörpern die Fähigkeit zu, sich durch einfache Durchschnürung zu teilen.

Auch Korotneff macht ähnliche Angaben wie Greeff. Er hat wie Greeff amöbenartige Organismen aus dem Körper einer *Pelomyxa* herauskommen sehen und glaubt auch, sie von den Glanzkörpern ableiten zu können. Jedoch ist er der Ansicht, daß die Glanzkörper erst eine ziemlich weitgehende Umwandlung durchmachen müßten, ehe sie als kleine Amöben austreten könnten.

Eine ähnliche Ansicht vertritt neuerdings wieder Penard in seiner 1902 erschienenen großen Bearbeitung der Rhizopoden des Genfer Sees. Auch er hält die Glanzkörper für die „Sporen" der *Pelomyxa*, ohne indessen auf die Entstehung der Glanzkörper näher einzugehen. Eine Umwandlung hält auch er für nötig, und seine Angaben stimmen in manchen Punkten mit denen Korotneff's überein.

Die Entstehung der Glanzkörper aus den Kernen glaubt auch Goldschmidt in seiner Arbeit: „Die Chromidien der Protozoen" nachweisen zu können. Die Kerne sollen sich gewissermaßen in Chromidien und Glanzkörper spalten, und zwar soll dieser Vorgang wie folgt verlaufen. Die Kernmembran schwillt zunächst an und der Inhalt wird so von der Wand getrennt, hängt aber bisweilen noch durch feine Fäden mit der Wand zusammen. Dann trennen sich die Nukleolarsubstanz, das Plastin, und das Chromatin, die sich vorher deckten. Man sieht dann eine Plastinkugel und einen kompakten Klumpen Chromatin, der immer mehr nach der Peripherie hin rückt, schließlich die Kernmembran durchbricht und sich in kleinere Körner auflöst, die sich im Plasma als Chromidien zerstreuen. Die zurückgebliebene Plastinkugel sieht jetzt schon aus wie ein Glanzkörper, nur hat sie zunächst noch die zerknitterte Kernmembran

um sich herum hängen. Wenn diese dann noch verschwindet, soll nach GOLDSCHMIDT der Glanzkörper fertig sein.

Diesen Erklärungen über Entstehung und Bedeutung der Glanzkörper steht gegenüber die Auffassung von A. STOLC. STOLC hat 7 Jahre lang Versuche über Verdauung und Bildung von Kohlehydraten bei *Pelomyxa* angestellt und kommt zu dem Schluß, daß die Glanzkörper der *Pelomyxa* als Reservenahrungsbehälter aufzufassen sind. Den Anfang seiner Arbeit bildet eine eingehende Untersuchung über die chemische Zusammensetzung der Glanzkörper, deren Resultat ist, daß an den Glanzkörpern eine Hülle und die Inhaltsmasse zu unterscheiden sind. Die letztere ergab sich zweifellos als Glykogen, während die Hülle aus einem schwerer löslichen Kohlehydrat besteht. Nach dieser Feststellung folgen dann verschiedene Hunger- und Fütterungsversuche, um nachzuweisen, daß das in den Glanzkörpern aufgespeicherte Material wirklich als Reservenahrung Verwendung findet. Verschiedene Individuen von *Pelomyxa* mit großen Glanzkörpern wurden isoliert und ohne Nahrung gehalten; der Erfolg war, daß nach einigen Tagen die Größe der Glanzkörper bedeutend abgenommen hatte, nach Zusatz von neuer Nahrung aber wieder zunahm. Dieser Versuch wurde häufig wiederholt und stets mit demselben Resultat. STOLC fütterte die Pelomyxen mit verschiedenen Stoffen, um deren Verdauung beobachten zu können, und fand dabei, daß Kohlehydrate und Glykoside sehr leicht verdaut und die vorher durch Hunger erschöpften Glanzkörper wieder gefüllt wurden. Bei Fütterung mit Eiweißstoffen konnte er an den erschöpften Glanzkörpern keine Veränderung nachweisen, dagegen wurde Glykogen, an koaguliertes Eiweiß gebunden, sehr leicht aufgenommen und die Glanzkörper mit Inhalt gefüllt. Fette wurden nicht verdaut.

Was die Entstehung neuer Glanzkörper betrifft, so glaubt STOLC, daß diese jedenfalls nicht von den Kernen ihren Ursprung nehmen, sondern frei im Plasma gebildet werden. Wahrscheinlich wird die Hülle als schwerer lösliches Kohlehydrat zuerst niedergeschlagen, worauf dann die Füllung mit Glykogen erfolgt. Auf diese Weise erklärt STOLC auch die Entstehung von Biskuit- und anderen Formen, indem hier zwei oder mehr Abscheidungen nebeneinander erfolgten, die dann verschmolzen sind. Sicher ist, daß man diese Formen nicht als unvollständige Teilungen ansehen darf.

Meine eigenen Untersuchungen haben mich zu Resultaten geführt, die das von STOLC Ausgeführte in gewisser Hinsicht bestätigen. Es war mir zwar nicht möglich, alle einzelnen Versuche STOLC's nach-

zuprüfen, aber jedenfalls konnte ich immer wieder sehen, daß durch Hunger die Glanzkörper bedeutend verkleinert, bei erneuter Nahrungszufuhr wieder angefüllt wurden. Es ist also wohl anzunehmen, daß wir es hier mit Reservenahrungsbehältern zu tun haben. Auch daß die Glanzkörper mit Glykogen erfüllt sind, konnte ich durch Nachprüfung der STOLC'schen Angaben erweisen. Endlich bin ich mit STOLC auch darin einer Meinung, daß die Glanzkörper nicht von den Kernen gebildet werden, sondern vom Plasma, denn ich fand sehr häufig bei Tieren mit sehr großen Glanzkörpern auch eine Menge kleiner und kleinster Glanzkörper von oft kaum 1 μ Durchmesser frei im Plasma der *Pelomyxa*, bisweilen zu Haufen vereinigt. Die Kerne zeigten in allen Fällen keinerlei Veränderungen. Das Auftreten in Haufen macht die Annahme STOLC's über die Bildung von Bisknitformen sehr wahrscheinlich.

Bakterien. Außer den Glanzkörpern treten als ständige Bestandteile des Pelomyxenkörpers noch die symbiotischen Bakterien auf, von deren Vorkommen oder Nichtvorkommen PENARD den Gattungsnamen *Pelomyxa* abhängig macht. Die Bakterien oder Stäbchen, wie sie GREEFF nennt, sind von diesem zuerst für „Samenfäden" der *Pelomyxa* gehalten worden. In seiner ausführlichen Arbeit sagt er über ihre Natur nichts Bestimmtes aus. Sicher erscheint ihm nur, daß sie aus organischer Substanz bestehen und, wie er sagt, Molekularbewegung zeigen, die auch außerhalb des Pelomyxenkörpers noch vorhanden sein soll.

Einige Jahre später kommt F. E. SCHULZE zuerst auf den Gedanken, daß es Bakterien sein könnten. Er schließt sich jedoch späterhin der Meinung GREEFF's an.

Nach den Angaben von LILIAN J. GOULD war es BROUNE, der zuerst die Stäbchen als Bakterien bei einer von ihm als *Pelomyxa viridis* beschriebenen Art erkannte.

PENARD erklärte sie dann als symbiotische Bakterien. Eine eingehende Schilderung und auch gute Abbildungen finden sich bei LILIAN J. GOULD. Ihr Partner HILL versuchte auch Reinkulturen dieser Bakterien zu züchten, was ihm allerdings nicht ganz gelang. ISRAEL zeigt, daß es diese Bakterien sind, die bei den von ihm beschriebenen Kontraktionen die Streifung veranlassen.

Ob die Stäbchen nun symbiotische oder parasitische Bakterien sind, läßt sich kaum entscheiden, da es sehr schwierig sein dürfte, die Vorteile zu erkennen, die der *Pelomyxa* aus ihrem Vorhandensein erwachsen. Wir müssen uns vorläufig mit der Tatsache begnügen.

daß es Bakterien sind und daß sie wahrscheinlich keinen schädigenden Einfluß auf die *Pelomyxa* ausüben.

Sonstige Einschlüsse. Als weiteres Charakteristikum für *Pelomyxa palustris* sind nach Penard die bei dieser Spezies immer vorkommenden Steinchen zu betrachten. Man findet sie gewöhnlich im ganzen Körper regellos zerstreut. Zuweilen jedoch finden sie sich auch an gewissen Stellen des Körpers zu Haufen vereinigt. Dieser Fall tritt sehr häufig dann ein, wenn man eine *Pelomyxa* in reines Kulturwasser auf einen Objektträger bringt und sie längere Zeit liegen läßt. Die Plasmaströmungen führen dann die kleinen Kieselstückchen zusammen, und man kann dann häufig auch die Beobachtung machen, daß sie bald darauf ausgestoßen werden. Das Ausstoßen der Steinchen tritt auch oft ein kurz vor dem Zerfließen bei Wassermangel.

Von sonstigen Einschlüssen, die im Körper der *Pelomyxa* vorkommen, sind nur noch Nahrungskörper und Schlammteile zu erwähnen. *Pelomyxa* ist in der Nahrung durchaus nicht wählerisch. Sie nimmt alles in sich auf, was ihr gerade in den Weg kommt, so daß man nicht selten auch leere Difflugien- und Arcellenschalen. Stücke von Ostrakodenschalen und dergleichen in ihrem Körper findet. Die Hauptnahrung scheinen indes *Diatomeen* und Pflanzenreste zu sein. Diese werden dann in Nahrungsvakuolen eingeschlossen, und was an ihnen unverdaulich ist, wird wieder ausgestoßen.

Teilungsversuche.

Pelomyxa eignet sich ihrer Vielkernigkeit wegen sehr gut zu Teilungsversuchen. Man kann eine *Pelomyxa* in beliebig viele Stücke zerschneiden, jedes Stück ist befähigt, für sich weiter zu leben, vorausgesetzt, daß es einen Kern hat. Schon Greeff berichtet darüber, daß man sie durchschneiden könne, ohne daß die Teilstücke zugrunde gehen. Penard gibt an, daß eine unter dem Deckglas zerdrückte *Pelomyxa* sich entweder ganz regeneriere oder einzelne Partien des Plasmas mit ihren Kernen selbständig würden und so eine Anzahl kleinerer Tiere bildeten, die dann den obwaltenden Verhältnissen besser angepaßt wären. Penard glaubt, daß dem Plasma eine besondere Kraft zukäme, im Falle der Gefahr in kleinere Teilstücke zu zerfallen und auf diese Weise gleichzeitig der Erhaltung und Verbreitung der Art zu dienen.

In der Tat besitzt *Pelomyxa* eine große Lebensfähigkeit. Ich habe den von Penard angegebenen Versuch, Pelomyxen unter dem

Deckglas zu zerdrücken, wiederholt ausgeführt und habe in den meisten Fällen, wenn der Druck nicht allzustark war und zum völligen Zerdrücken führte, ein Weiterleben der Tiere beobachten können.

Wenn die centralen Partien des Körpers viele Nahrungsvakuolen enthielten, war es eine häufige Erscheinung, daß sich das Plasma von den Nahrungskörpern zurückzog und einen geschlossenen Ring um die in der Mitte liegende Nahrung bildete. Oft erhielten sich zwischen den einzelnen Vakuolen auch noch Brücken lebenden Plasmas, so daß das Tier dann geradezu netzförmig verzweigt erschien. In anderen Fällen wieder lösten sich Bestandteile des Körpers los, rundeten sich ab und begannen dann jeder Teil für sich wegzukriechen.

Auch bei Verletzungen anderer Art zeigt *Pelomyxa* ein großes Regenerationsvermögen, wenn man hier überhaupt von Regeneration reden darf, da ja im Grunde genommen höchstens die Körpergestalt wiederhergestellt wird. Beim Herausnehmen aus dem Schlamm kommt es öfter vor, daß man ein Tier mit der Nadel zersticht. Ein auf diese Weise verletztes Exemplar, dessen Teilhälften nur noch durch eine schmale Verbindungsbrücke zusammenhingen, wurde zwecks näherer Beobachtung auf den Objektträger gebracht. Nach einiger Zeit war das Tier wieder zu einer Kugel zusammengeflossen. Die verwundeten Stellen bildeten zunächst kleine hyaline Pseudopodien und näherten sich einander. Hierauf trat, von der Verbindungsstelle ausgehend, eine hyaline Plasmawelle aus, die an beiden Teilen bis zum Rande hinfloß und sie auf diese Weise wieder vereinigte. Nach der vollständigen Vereinigung und Abrundung zu einer Kugel umkreisten noch eine Zeitlang Wellen von hyalinem Protoplasma den ganzen Körper, dann aber wurden wieder die gewöhnlichen Pseudopodien gebildet, und das Tier fing an davonzukriechen. In diesem Stadium wurde die *Pelomyxa* von neuem mit der Nadel verletzt. Diesmal war die Durchteilung wohl zu weit geführt, denn beide Hälften trennten sich und jede entwickelte sich zu einer *Pelomyxa*. Hierbei ging ein geringer Teil des Protoplasmas mit einigen Kernen verloren. Die beiden Teiltiere kamen später wiederholt in innigste Berührung, ohne jedoch dabei wieder zu verschmelzen. Selbst als ich beide verletzte und mit den wunden Stellen aneinander legte, war es mir nicht möglich, eine Wiedervereinigung zu erzielen. Sie blieben getrennt und jedes entwickelte sich für sich in der oben für das ganze Tier geschilderten Weise. Ich habe den Versuch der Wiedervereinigung zweier durch Zerschneiden ge-

bildeter Tiere wiederholt auszuführen versucht, allein immer mit demselben negativen Resultat.

Fortpflanzung.

Über die Fortpflanzung von *Pelomyxa palustris* ist bis jetzt nur wenig bekannt. Die Forscher, die *Pelomyxa* studierten, haben in dieser Hinsicht immer nur Vermutungen ausgesprochen. Greeff glaubte, wie schon gesagt, daß die Glanzkörper mit der Fortpflanzung in enger Beziehung ständen, indem sie jene Amöben aus sich hervorgehen ließen, die nach Greeff Entwicklungsstadien der *Pelomyxa* sein sollen. Daß Greeff die Bakterien zuerst für Samenfäden hielt, wurde auch bereits erwähnt. In neuerer Zeit hat Penard wieder Ansichten geäußert, die sich im wesentlichen mit denen Greeff's decken. Auch er faßt die Glanzkörper als „Sporen“ auf, die sich zu den Greeff'schen Amöben oder, wie er es nennt, zu „Embryonen“ in der *Pelomyxa* entwickeln. Daneben hält er aber auch noch eine andere Art der Fortpflanzung für wahrscheinlich. Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt erwähnt, nimmt er an, daß im „Falle der Gefahr“ das Plasma entweder eine Ausstreuung von Sporen oder von Fragmenten des Körpers veranlasse. Daß die *Pelomyxa* im gegebenen Falle ihren Körper in verschiedene für sich lebensfähige Stücke zu teilen imstande ist, beweisen die Versuche unter dem Deckglas; ob jedoch in der Natur solche Fälle vorkommen, ist zu bezweifeln, jedenfalls wird man dieser Art der Fortpflanzung keinen großen Wert beizumessen haben.

Direkte Zweiteilung des ganzen Körpers soll vorkommen. F. E. Schulze beschreibt einen Fall, den er beobachtete, wobei ein Tier sich durch einfache Durchschnürung in zwei Hälften teilte. Diese Arten der Fortpflanzung wird man wohl als ungeschlechtliche Fortpflanzung bezeichnen können im Gegensatz zu einer anderen Art, die ich geneigt bin als geschlechtliche Fortpflanzung anzusehen, da es hier zur Bildung und vollständigen Verschmelzung je zweier Gameten kommt.

Diese geschlechtliche Fortpflanzung wird durch eine Veränderung der Kerne eingeleitet. Bevor ich jedoch auf die die Fortpflanzung einleitenden Kernveränderungen eingehe, muß ich über die Veränderungen der Kerne im allgemeinen noch verschiedenes vorausschicken. Es treten nämlich auch Kernveränderungen auf, die mit der Fortpflanzung nichts zu tun haben, und ich möchte die beiden Arten als vegetative und generative Veränderungen unterscheiden. Zu den vegetativen Veränderungen der Kerne von *Pelomyxa* ist nach

Goldschmidt die Bildung von Chromidien zu rechnen. Es sind dies kleinere oder größere Chromatinbrocken, die aus den Kernen stammen und frei im Plasma liegen, aber keineswegs immer dort vertreten sind. Goldschmidt unterscheidet in seiner Abhandlung zwischen „Chromidien im engeren Sinne“ und „Sporetien“, und faßt unter dem ersten Begriff alle diejenigen extranukleären chromatischen Gebilde zusammen, die aus dem Kern ausgestoßen werden infolge vegetativer Vorgänge, wie durch Hunger oder Überfütterung. Unter Sporetien will er dagegen die chromatischen Körper verstanden wissen, die nicht wie die Chromidien zugrunde gehen, sondern imstande sind, wieder bläschenförmige Kerne zu bilden. Neuerdings schlägt Schaudinn vor, für beide Arten den Namen Chromidien beizubehalten und sie als somatische und generative Chromidien zu unterscheiden.

Goldschmidt bezeichnet die bei *Pelomyxa palustris* auftretenden Chromidien als vegetative Gebilde, und es ist sicher, daß ein Teil des extranukleären Chromatins durch Ausstoßung aus dem Kern infolge rein vegetativer Vorgänge gebildet werden kann. Andererseits werden aber auch Chromatinteile ausgestoßen, die wahrscheinlich mit der Fortpflanzung in enger Beziehung stehen, ohne sich von den anderen in ihrem Aussehen zu unterscheiden. Diesen letzteren kommt auch wieder die Fähigkeit zu, bläschenförmige Kerne aus sich heraus zu bilden. Eine strenge Unterscheidung beider Arten läßt sich kaum durchführen, da mir kein Mittel bekannt ist, sie vielleicht durch Färbungen in verschiedener Weise zur Darstellung zu bringen. Man wird deshalb wohl gut tun, sie unter dem gemeinsamen Namen „somato-generative Chromidien“ zusammenzufassen.

Es kommt bei *Pelomyxa* bisweilen vor, daß sich ganze Kerne auflösen und ihr Chromatin in das Plasma übertritt. Die Kernmembran löst sich dann entweder ganz oder zuerst nur an einer Stelle auf und die Chromatinkörner werden durch die Plasmaströmungen im Zelleib verteilt. In der Fig. 2 hat sich die eine Seite der Kernmembran gelöst, und die einzelnen Chromatinteile sind im Auswandern begriffen. Schon kurz nach dem Austreten macht sich hier bei den meisten eine Scheidung in zwei verschieden färbbare Substanzen bemerkbar; das Plastin trennt sich vom Chromatin, und letzteres scheint in das umgebende Plasma überzutreten und sich dort zu verlieren, während auch das Plastin allmählich in das umgebende Plasma übergeht. In anderen Fällen finden sich die Chromatinkörner noch kernähnlich vereinigt (Fig. 3), ohne jedoch

von einer Membran umgeben zu sein. Die Fig. 4 zeigt ebenfalls die Chromidien noch in kernähnlicher Anordnung, und hier sind bei einem Teil derselben schon die gleichen Veränderungen eingetreten wie in Fig. 2. Im Vergleich zu der Entwicklung der später noch zu besprechenden, auf andere Weise entstandenen Chromidien glaube ich nicht fehlzugehen, wenn ich die hier sich vollziehenden Veränderungen für Degenerationserscheinungen halte. Die Bildung dieser Art von Chromidien vollzieht sich nicht an allen Kernen zugleich, sondern gewöhnlich kann man sie nur an einzelnen wenigen konstatieren. Diese Chromidien bin ich dann auch geneigt als vegetative oder somatische Chromidien zu betrachten, da sie besonders häufig nach Hungerperioden zu finden sind.

Nun kommt aber, wenn sich die *Pelomyxa* zur Fortpflanzung anschickt, noch eine andere Art der Chromidienbildung vor, die auf einer Reduktion der Chromatinmasse der Kerne beruht und deren Bildung ich bei der Betrachtung dieser generativen Veränderungen noch näher zu schildern haben werde. Diese Chromidien gleichen, wie schon erwähnt, den durch totale Auflösung der Kerne entstandenen, doch scheint ihre Weiterentwicklung eine andere zu sein. Während ein Teil der Chromidien zugrunde geht, bilden die anderen wieder neue bläschenförmige Kerne, und es ist sehr wahrscheinlich, daß die auf die letztere Art entstandenen auch diejenigen sind, welche die neuen Kerne bilden. An den die geschlechtliche Fortpflanzung einleitenden Vorgängen beteiligen sich alle Kerne, und es sind dann in diesem Stadium überhaupt keine typischen bläschenförmigen Kerne mehr vorhanden. Aber bald nach der Ausstoßung des überschüssigen Chromatins aus den veränderten Kernen beginnen die dadurch entstandenen Chromidien neue Kerne zu bilden, und zwar geschieht dies in derselben Weise, wie es M. Zuelzer für *Difflugia urceolata* beschreibt.

Die kugeligen Chromidien schwellen an (Fig. 5, 5a) und man kann bald eine deutliche Scheidung in zwei Substanzen erkennen (Fig. 5b—d). Die Mitte nimmt ein runder Brocken Chromatin ein, während die Randpartie von etwas schwächer färbbarem Plastin gebildet wird. Die zunächst kompakte Chromatinmasse (Fig. 5b—c) lockert sich nun allmählich auf, und man kann sehen, wie sie sich in kleinere Körnchen differenziert (Fig. 5d). Diese Körnchen werden immer deutlicher und rücken schließlich nach der Peripherie hin auseinander. Gleichzeitig mit diesen Vorgängen findet ein Wachstum des Ganzen und die Ausbildung einer Membran statt. Der neue bläschenförmige Kern ist fertig (Fig. 6—10). Er braucht jetzt

nur noch zu wachsen, um auch in der Größe vollständig mit einem gewöhnlichen Pelomyxenkern (Fig. 11) übereinzustimmen.

Ähnliche Vorgänge wie die eben geschilderten scheint Greeff schon gesehen zu haben, denn auf Taf. IV Fig. 13 gibt er Abbildungen, die im wesentlichen mit den Fig. 5—11 übereinstimmen.

Die Vorgänge, denen die zuletzt besprochene Art von Chromidien ihre Entstehung verdankt, vollziehen sich nun wie folgt. Das erste, was man an den Kernen einer sich zur Fortpflanzung anschickenden *Pelomyxa* sehen kann, ist eine geänderte Anordnung der Chromatinbröckchen. Diese nehmen für gewöhnlich eine periphere Lage ein, während das Kerninnere nur sehr kleine Chromatinpartikelchen in den Knoten des Kerngerüstes zeigt (Fig. 11). Jetzt rückt das Chromatin von der Peripherie weg mehr in das Innere des Kernes, das Kerngerüst verschwindet und die Grundsubstanz, in der das Chromatin eingebettet ist, erscheint vollständig homogen. Die einzelnen Chromatinbrocken beginnen nun zu verschmelzen und einen oder mehrere Klumpen zu bilden. Diese Klumpen sind gewöhnlich kugelig abgerundet, zuweilen aber auch länglich. Oft haben sie das Aussehen einer durchaus kompakten Chromatinkugel, in den meisten Fällen aber kann man ihre Zusammensetzung aus feinen Chromatinkörnern noch erkennen (Fig. 12—15). Die Chromatinkörner erscheinen dann in eine sehr dunkel färbbare Substanz, offenbar von feinsten Chromatinteilchen stark durchsetztes Plastin eingebettet. Wenn sich das Chromatin so zusammengeballt hat, beginnt die Kernmembran an einzelnen Stellen dünner zu werden (Fig. 14), und es erfolgt nun ein Auswandern der Chromatinbrocken (Fig. 15). Der Vorgang ist fast genau übereinstimmend mit dem von M. Zuelzer für *Difflugia urceolata* beschriebenen, und die Abbildungen besonders Taf. XI Fig. 4b und 4c stimmen sehr gut mit den auch bei *Pelomyxa* gefundenen Stadien überein.

Das ausgestoßene Chromatin löst sich außerhalb des Kernes wieder in einzelne kleinere Brocken auf, die dann als die bereits erwähnten Chromidien (Fig. 1 und Fig. 15) im Plasma zerstreut werden. Weshalb wird nun das Chromatin aus dem Kern entfernt? Die Antwort auf diese Frage ist die: Es wird nicht alles Chromatin aus dem Kern ausgestoßen, sondern es handelt sich hier nur um eine Chromatinreduktion. Innerhalb der Kernmembran bleibt noch ein bestimmter Rest von Chromatin zurück, und dieser Rest wird verwandt zum Aufbau einer typischen Spindel. Es ist jedoch bei der Ausbildung der Spindel nicht nötig, daß sich schon alles übrige Chromatin außerhalb der Kernmembran befindet, sondern das Wesent-

liche ist, daß nur ein bestimmter, relativ geringer Teil des Chromatins zum Aufbau der Äquatorialplatte der Spindel Verwendung findet. Dies zeigt z. B. Fig. 6. wo noch fast alles Chromatin zu Klumpen geballt im Kern vorhanden, daneben aber auch bereits die Spindel ausgebildet ist. In der Regel liegt allerdings die Spindel allein noch in dem alten Kern. Ein ähnliches Verhalten des Chromatins hat man bei verschiedenen Gregarinen gefunden. Bei *Clepsidrina ovata* wird, wie Schnitzler nachgewiesen hat, auch nur ein geringer Teil des im Kern vorhandenen Chromatins zum Aufbau der Spindel verwandt, während das übrige im Plasma zerfällt.

In beiden Fällen haben wir vollständig intranukleäre Spindelbildung: sämtliche Bestandteile der Spindel gehen aus dem Kern hervor, denn die Kernmembran ist bei ihrer Ausbildung noch vollständig vorhanden. Ein Unterschied zwischen *Clepsidrina ovata* und *Pelomyxa* liegt darin, daß, wie bereits erwähnt, bei *Pelomyxa* die Spindel allein im Kern liegt und die Kernmembran lange Zeit noch erhalten bleibt, während bei *Clepsidrina ovata* mit dem Zerfall des Chromatins auch eine Auflösung der Kernmembran und somit auch des ganzen ursprünglichen Kerns eintritt. Die auf die erste folgenden zweiten Spindeln liegen bei *Clepsidrina ovata* schon nicht mehr im Kern, wie es bei *Pelomyxa* der Fall ist.

Betrachtet man die Chromatinreduktion und die Spindelbildung vom Standpunkt der neueren Chromidialtheorie nach Schaudinn, so ist der Vorgang hier offenbar der, daß das somatische Chromatin bei *Pelomyxa* ausgestoßen wird, während das generative Chromatin im Kern bleibt und die Spindel bildet.

Die Spindel zeigt den typischen Bau einer mitotischen Figur, wie man sie bei den Metazoen zu finden gewohnt ist, nur ist sie sehr klein. Die ersten Spindeln messen von Pol zu Pol kaum mehr als 3 μ, die größten 4 μ. Der Durchmesser der Äquatorialplatte beträgt ebenfalls nur 3 μ. Die Spindel zeigt deutlich zwei Centrosome, Spindelfasern und eine aus einer bestimmten Anzahl von Chromosomen zusammengesetzte Äquatorialplatte. Die Centrosome sind kleine rundliche Gebilde, die sich mit Heidenhain'scher Eisenhämatoxylin-Färbung dunkel färben. Sie lassen in ihrer Umgebung keine Strahlung erkennen, wohl aber sind die Spindelfasern oft gut sichtbar. Es muß hier bemerkt werden, daß die Bildung der Spindel. d. h. das Auftreten und die weitere Ausbildung der chromatischen und achromatischen Elemente, wegen der außerordentlichen Kleinheit des Objekts sowohl bei der ersten, wie bei der noch zu erwähnenden zweiten Spindel nicht in allen Phasen zu verfolgen war und große

Schwierigkeiten bereitete. Ich kann daher über die Ausbildung der ersten Spindel, über die Bildung der Äquatorialplatte und über die Herkunft der Centrosome nichts sagen, da es mir nicht gelungen ist, ein entsprechendes Stadium zu finden. Wie ja bereits erwähnt, können die ersten Spindeln schon ausgebildet werden, bevor alles Chromatin aus den Kernen entfernt ist, und es ist dann um so schwieriger, irgend einen Chromatinbrocken mit Sicherheit als denjenigen zu bezeichnen, der die Äquatorialplatte bilden soll. Für die Centrosome ist wohl anzunehmen, daß zunächst ein einziges Centrosoma im Kern vorhanden war, aus dem durch Teilung, ähnlich derjenigen, wie wir sie später bei den zweiten Spindeln finden werden, die zwei Centrosome der ersten Spindel hervorgegangen sind.

Die Chromosome sind längliche oder kugelige Chromatinbrocken, die in der ersten Spindel in der konstanten Anzahl von acht vorhanden sind. In Fig. 17 sind von diesen acht Chromosomen fünf sichtbar, die anderen sind verdeckt. Fig. 18 u. 19 zeigen die Äquatorialplatte schräg von oben, und hier kann man sehr gut die acht Chromosome erkennen. In Fig. 18 sind die beiden Centrosome eingezeichnet, obwohl man sie nicht zu gleicher Zeit, d. h. bei ein und derselben Einstellung des Mikroskopes sieht. Erst durch Heben oder Senken des Tubus kann man beide deutlich nacheinander erkennen. Sie liegen also nicht in einer Ebene, wie man nach der Darstellung in der Fig. 18 denken könnte. In Fig. 19 ist nur das untere Centrosoma zu sehen. Ich erwähne dies deshalb, weil hier leicht der Anschein einer Teilung in Tochterplatten erweckt werden könnte. Die Fig. 20 zeigt die Äquatorialplatte in Polansicht, und hier ist jeder Zweifel ausgeschlossen, daß es sich wirklich um acht Chromosome handelt. Sie sind zwar nicht alle acht deutlich zu erkennen, doch genügt meines Erachtens hier schon der Beweis, daß es mehr als vier sind, um die Zahl acht zu sichern. Die Bildung der Tochterplatten aus der Äquatorialplatte geht nun in der Weise vor sich, daß vier ganze Chromosome nach der einen Seite, die übrigen vier nach der anderen Seite auseinander rücken. Wir haben es also hier mit einer Reduktionsteilung zu tun, bei welcher die Zahl der Chromosome von acht auf vier reduziert wird.

Es ist dies der dritte Fall, daß für Protozoen eine Zahlreduktion der Chromosome nachgewiesen wird. Schaudinn und Prowazek fanden bei *Trypanosomen* eine Reduktion von acht auf vier Chromosome, und Prandtl stellte bei *Didinium* eine Reduktion von sechzehn auf acht Chromosome fest. Die *Trypanosomen* bilden nach Schaudinn und Prowazek regelrechte Vierergruppen, die bei den Reifungs-

teilungen aufgeteilt werden. Die Reduktion soll hier nach dem Boveri'schen Typus verlaufen. Bei *Didinium* bereitet sich der Nebenkern durch zwei Reifungsteilungen, denen dann noch eine dritte Teilung folgt, zur Konjugation vor. Die erste Reifungsteilung ist hier eine Äquationsteilung, während erst die zweite die Zahlreduktion hervorbringt. Von den aus diesen zwei Teilungen resultierenden vier Kernen gehen bei Didinium drei zugrunde, während der bleibende Geschlechtskern sich jetzt durch die dritte Teilung in einen männlichen und einen weiblichen Kern differenziert.

In Fig. 21 ist der Beginn des Auseinanderweichens der Chromosome dargestellt, und Fig. 22 zeigt die fertigen Tochterplatten mit je vier Chromosomen. Die vier Chromosome in den Tochterplatten verschmelzen nunmehr zu einem kompakten runden Klumpen und drehen sich hierbei oft samt ihrem Centrosoma (Fig. 23—25), so daß sie häufig mit den Centrosomen einander zugekehrt liegen, wie z. B. in Fig. 25. Gleichzeitig umgeben sich Chromatin und Centrosoma mit einer etwas dunkler als die Umgebung färbbaren Substanz (Fig. 23—27) und scheinbar auch mit einer sehr zarten Membran, doch läßt sich letzteres nicht mit Bestimmtheit nachweisen.

Es ist vielleicht angebracht, diese Gebilde mit einem besonderen Namen zu belegen, und ich möchte den Namen „Pronuklei" für sie vorschlagen, da sie selbst keine Kerne sind, wohl aber später die Bildung von Kernen veranlassen. Die aus der ersten Spindel resultierenden Pronuklei würden dann als solche erster Ordnung (Fig. 23—27) zum Unterschied von den noch zu beschreibenden zweiter Ordnung (Fig. 34) zu bezeichnen sein.

Die Centrosome der Pronuklei erster Ordnung beginnen alsbald sich zu teilen, und zwar unter Bildung einer Art Centralspindel. Fig. 25 zeigt den Beginn dieser Teilung am unteren Pronukleus. In Fig. 26 ist die Teilung des einen Centrosomas schon weiter fortgeschritten, und die Verbindungsfasern zwischen den beiden Tochtercentrosomen sind deutlich zu erkennen. Fig. 27 zeigt beide Centrosome in diesem Stadium. In Fig. 28 endlich haben die Tochtercentrosome des einen Pronukleus bereits ihre polare Stellung eingenommen und der Chromatinbrocken ist zwischen beide als Äquatorialplatte eingerückt. Er läßt jetzt wieder seine Zusammensetzung aus vier Chromosomen erkennen. Die Verbindungsfasern der Centrosome sind auch hier noch deutlich zu erkennen, und aus der umgebenden Substanz scheinen sich jetzt die Spindelfasern für diese zweiten Spindeln zu differenzieren. Fig. 29 zeigt beide Spindeln in ausgebildetem Zustande. Sie sind schlanker als die ersten Spindeln,

und wenn beide gleichzeitig ausgebildet nebeneinander liegen, ist eine Verwechslung nicht möglich. Es kommt jedoch vor, daß beide Spindeln nicht gleichzeitig ausgebildet sind und die eine in der Entwicklung weit voraus ist, womöglich schon die Pronuklei zweiter Ordnung gebildet hat, während sich die andere noch im Spindelstadium befindet; oder es kommt vor, daß wohl beide Spindeln in einem Kern vorhanden, beim Schneiden aber getrennt worden sind. In diesem Falle ist die Zahl der Chromosome das sicherste Kennzeichen. Die zweiten Spindeln enthalten in der ungeteilten Äquatorialplatte immer nur vier Chromosome. In den meisten Fällen sind von diesen vier Chromosomen nur drei sichtbar, so in Fig. 29. Sieht man die Äquatorialplatte von oben, so sind stets die vier Chromosome nachzuweisen (Fig. 31 u. 32). Die Bildung der Tochterplatten bei diesen zweiten Spindeln geht nun in anderer Weise vor sich als bei den ersten Spindeln. Dort rückten je vier ganze Chromosome in entgegengesetzter Richtung auseinander, hier teilt sich jedes der vier Chromosome quer durch (Fig. 30 u. 31), und die Tochterplatten (Fig. 33) enthalten wohl auch vier Chromosome, aber nur mit der Hälfte der chromatischen Substanz.[1]) Diese Teilung ist eine Äquationsteilung.

Vom Standpunkt der Reduktionsfrage aus betrachtet haben wir es hier bei Pelomyxa mit einer verhältnismäßig einfachen Präreduktionsteilung im Korschelt'schen Sinne zu tun, während die früher erwähnte Reduktion bei *Didinium* einer Postreduktion entsprechen würde. Der Vorgang ist also hier ähnlich dem für *Ophryotrocha* beschriebenen, nur daß die Komplikation des Zusammenlegens zweier und auch die frühzeitige Spaltung des einzelnen Chromosoms unterbleibt und dadurch der Verlauf der Reduktions- und Äquationsteilung ein sehr einfacher wird. Die Äquatorialplatte der ersten Spindel enthält acht einwertige Chromosome, die durch die Teilung auf vier reduziert werden. Diese vier einwertigen Chromosome werden dann in der zweiten Teilung quer durchschnürt, wodurch jetzt in jeder Tochterplatte nur noch die Hälfte der Normalzahl, aber halbwertige Chromosome vorhanden sind.

Die vier Chromosome vereinigen sich auch hier kurz nach dem

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Diesen Vorgang konnte ich an meinen Präparaten nicht nur mit völliger Sicherheit feststellen, sondern auch wiederholt verschiedenen Herren demonstrieren. Ich glaube dies hier erwähnen zu sollen, weil die Wiedergabe der Originalzeichnungen, auf denen ich dies möglichst naturgetreu nach den Präparaten herzustellen suchte, den Vorgang nicht mit der gleichen und jedenfalls wünschenswerten Deutlichkeit erkennen läßt.

Auseinanderrücken wieder zu einem Klumpen, umgeben sich auch wieder mit einer dunkler färbbaren Substanz und einer sehr schwachen Membran; die Pronuklei zweiter Ordnung (Fig. 34) sind gebildet.

Bis zur Ausbildung der zweiten Spindel umschloß die ehemalige Kernmembran noch alle diese Gebilde. Die erste Spindel, die Pronuklei erster Ordnung und die zweiten Spindeln lagen alle noch innerhalb dieser vielleicht zum Schutz dienenden, lockeren Membran. Nach der Ausbildung der Pronuklei zweiter Ordnung aber geht die Membran verloren (Fig. 33). Die Pronuklei zweiter Ordnung liegen frei im Plasma, denn die homogene Substanz, in der die Spindeln eingebettet waren, schwindet nach der Auflösung der Membran in dem übrigen Protoplasma.

Welche Bedeutung haben nun diese Spindelbildungen und Teilungen des generativen Chromatins für die *Pelomyxa?* Offenbar liegt auch hier der Schluß nahe, daß wir es mit den Reifungsteilungen zu tun haben, die den nachfolgenden Befruchtungsvorgang vorbereiten, wie ähnliches ja besonders in letzter Zeit immer mehr auch für die Protozoen nachgewiesen worden ist, nämlich daß auch ihre Geschlechtskerne Reifungsteilungen durchmachen müssen. Manche Protozoen verhalten sich nun bei diesen Reifungsteilungen wie die Eier der Metazoen, indem bei ihnen Richtungskörper gebildet werden. Auch bei dem früher erwähnten *Didinium* ist dies der Fall. Bei *Pelomyxa* hingegen vollzieht sich der Vorgang auf andere Weise und erinnert vielmehr an den Verlauf der Reifungsteilungen bei der Spermatogenese der Metazoen, denn die vier Enkelkerne erscheinen ganz gleichartig und nichts spricht dafür, daß sie später zugrunde gingen, sondern alle vier entwickeln sich höchstwahrscheinlich weiter und liefern, wie wir noch sehen werden, Gameten. Ein exakter Nachweis dafür läßt sich indessen nicht führen, da bei der großen Masse der Kerne und der noch größeren Masse der Pronuklei zweiter Ordnung es immerhin denkbar wäre, daß von je vieren nur einer zur Weiterentwicklung käme. In keinem Falle habe ich aber einen degenerierenden Pronukleus zweiter Ordnung gesehen und glaube daraus schließen zu dürfen, daß alle sich in derselben Weise ziemlich rasch weiterentwickeln.

Die Pronuklei zweiter Ordnung sind zunächst nur 1,5 μ im Durchmesser, etwas kleiner als die erster Ordnung, bald jedoch vermehrt sich sowohl das Chromatin wie auch das umgebende Plasma (Fig. 34—37). Die Pronuklei wachsen und es beginnt damit gleichzeitig die Chromatinkugel ovale Form anzunehmen (Fig. 37). Sie streckt sich immer mehr in die Länge und schließlich erfolgt in

der Mitte eine Durchschnürung, so daß in dem Pronukleus jetzt neben dem Centrosoma zwei Chromatinkugeln liegen (Fig. 39—41). Das Centrosoma, das in diesem Stadium immer deutlich zu erkennen ist, verliert sich im Laufe der weiteren Entwicklung. In Fig. 41 ist es noch vorhanden, und zwar liegt es hier am Rande einer in diesem Stadium zuerst auftretenden Vakuole, aus der sich, wie wir sehen werden, später der Kern bilden soll. Es ist nun sehr wahrscheinlich, daß das Centrosoma schon früher als das Chromatin in einem Stadium, wie es die Fig. 41—43 zeigen, in die Vakuole, d. h. also in den späteren Kern einwandert und womöglich die Ursache der späteren Chromatineinwanderung ist, doch ist dies nur eine Annahme, da es mir nicht gelungen ist, in der Vakuole selbst späterhin das Centrosoma nachzuweisen.

Im Folgenden werde ich die aus den Pronuklei zweiter Ordnung durch Teilung des chromatischen Bestandteils und Wachstums des Ganzen hervorgegangenen Gebilde, die ich in meiner vorläufigen Mitteilung (Zool. Anz. Bd. XXIX Nr. 25/26) als Plasmakugeln nannte, nunmehr als Keimkugeln bezeichnen, weil sich aus ihnen die Fortpflanzungskörper der *Pelomyxa* bilden. Das Plasma dieser Keimkugeln ist zunächst mit Heidenhain'schem Eisenhämatoxylin sehr stark und gleichmäßig färbbar, und es ist wohl anzunehmen, daß es reichlich chromatische Substanz in sehr feiner Verteilung enthält (Fig. 41—47). Die Größe der eben neugebildeten Keimkugeln beträgt gewöhnlich 4 μ im Durchmesser; sie wächst bis auf 10—12 μ im vollständig ausgebildeten Zustande. Wenn eine gewisse Größe, meistens 5—6 μ im Durchmesser, erreicht ist, zeigt sich auf Schnitten im Innern der Kugel eine heller gefärbte Stelle, die von dem früher schon kurz erwähnten vakuolenartigen Gebilde herrührt. Das weitere Schicksal dieser Vakuole macht es wahrscheinlich, daß sich hier in dieser Form zunächst die achromatische Substanz eines Kernes aus dem Plasma absondert. Der Vakuoleninhalt erscheint nur sehr schwach gefärbt und durchaus homogen. Der Färbungsunterschied zwischen der Vakuole und dem umgebenden Plasma ist in diesen ersten Stadien (Fig. 41—44) ein sehr großer.

Ob die Vakuole beide achromatischen Bestandteile des Kernes, Linin und Plastin, enthält, läßt sich nicht nachweisen, es ist indessen wahrscheinlich, daß beide schon vertreten sind, da das Chromatin später in Form feinster Körnchen in die Vakuole einwandert und dann besonders in den centralen Partien sich zunächst zu kleineren, dann zu größeren Bröckchen zusammenlagert. Das Plastin wird sich dann wohl in dieser zentralen Partie gesammelt haben und

dort die Vereinigung der Chromatinteilchen veranlassen; indessen nachweisen läßt sich diese Trennung von Linin und Plastin vor der Chromatineinwanderung und während derselben nicht, wenn man nicht die Konzentration des Chromatins im Centrum als Beweis ansehen will.

Bei weiterem Wachstum der Keimkugeln nimmt der Färbungsunterschied zwischen Vakuole und Plasma immer mehr ab (Fig. 45 bis 47). Die beiden Chromatinkugeln verlieren jetzt zuweilen ihre regelmäßige Kugelgestalt, indem sich Teile von ihnen abspalten, oft behalten sie aber ihre ursprüngliche Form bis zum Übertritt in den Kern bei. Die Maximalgröße der Keimkugel ist erreicht, wenn ihr Durchmesser 10—12 μ beträgt. Das Plasma ist in diesem Stadium meist noch sehr dunkel gefärbt, die Vakuole wenig dunkler als vorher, aber wesentlich größer geworden, so daß ihr Durchmesser jetzt bis zu 6 μ beträgt (Fig. 45 u. 46). Jetzt umgeben sich die Keimkugeln mit einer polygonal gefelderten Hülle (Fig. 46—53), und in dieser Hülle vollzieht sich dann die gesamte weitere Ausbildung des Kernes und des ganzen Gameten.

Im optischen Querschnitt zeigt die Hülle, wie aus den Fig. 46—53 zu ersehen ist, am Rande kleine Verdickungen, die von Rippen auf ihrer Oberfläche herrühren, durch die auch die Felderung veranlaßt wird. Auf den Schnitten ist die Felderung bei entsprechender Einstellung des Mikroskops fast immer zu sehen, doch ist dies in den Figuren weggelassen, um die Vorgänge im Innern der Hülle klarer zum Ausdruck zu bringen, nur in Fig. 52 ist die ganze Oberfläche dargestellt.

Die Ausbildung des Kernes in der Achromatinvakuole wird dadurch eingeleitet, daß das im Plasma fein verteilte Chromatin nun anfängt in die Vakuole einzuwandern. Dieser Vorgang macht sich dadurch bemerkbar, daß die Färbbarkeit der Vakuole mehr und mehr zunimmt, während andererseits das Plasma immer weniger färbbar erscheint. In Fig. 46 ist die Vakuole im Verhältnis zum Plasma noch ziemlich hell, während sie in Fig. 47 nur noch einen geringen Unterschied in der Färbung zeigt. In diesem Stadium erscheint die Vakuole auch bei Anwendung sehr starker Vergrößerungen noch durchaus homogen, es lassen sich noch keine Chromatinkörnchen in ihr nachweisen. Bald jedoch erfolgt in der Vakuole eine Verdichtung des Chromatins nach dem Centrum der Vakuole hin, und jetzt kann man bei starker Vergrößerung sehr feine Chromatinkörnchen erkennen, die sich aus dem vorher als feinster Staub vorhandenen Chromatin gebildet haben. Die Fig. 48 zeigt den Be-

ginn der Anhäufung um den Mittelpunkt mit gleichzeitiger Ausbildung feiner Körnchen. Das Plasma ist hier noch heller geworden und die centrale Partie der Vakuole färbt sich jetzt ziemlich dunkel, während die äußere Partie wieder weniger chromatinhaltig erscheint. Die beiden Chromatinkugeln außerhalb der Vakuole haben jetzt auch an Größe verloren und auch Teile ihres Chromatins sind in die Achromatinvakuole hinübergewandert. Ein etwas späteres Stadium zeigt Fig. 49. Hier sind die Chromatinkörner durch weiteres Zusammenfließen schon deutlicher geworden, während die Vakuole jetzt ihre scharfe Kontur verloren hat und den dunklen Kern meist nur noch als heller Hof umgibt. Die beiden Chromatinkugeln zeigen hier wie auch in Fig. 51 eine fortschreitende Auflösung, und in Fig. 51 sieht man geradezu dunkel gefärbte Streifen von ihnen ausgehen, die nach dem neuen Kern hinüberleiten. Indessen scheinen sie sich nicht völlig aufzulösen, sondern nur ein Größenminimum, vielleicht ihre ursprüngliche Größe, zu erreichen nnd dann ganz in den neuen Kern überzugehen. Die Fig. 52 u. 52a macht dies wahrscheinlich. Jedenfalls löst sich nur das durch das Wachstum hingekommene vegetative Chromatin von ihnen ab und der generative Bestandteil wandert als solcher in den Kern ein. Ein Zwischenstadium zwischen Fig. 49 u. 51 scheint die Fig. 50 zu sein, wo erst wenige größere Brocken gebildet sind, während in Fig. 51 die Mehrzahl der Chromatinbrocken ihre endgültige Größe erreicht hat und die periphere Anordnung bereits beginnt. Bis zu dem Stadium, das in Fig. 52 dargestellt ist, erkennt man keine Membran um den sich bildenden Kern, er wird gegen das Plasma nur durch den von der Vakuole zurückgebliebenen hellen Hof abgegrenzt. Wenn die chromatischen Teile ihre Anordnnng erreicht und vor allem auch die beiden Chromatinkugeln vollständig in den Kern übergegangen sind, wird von diesem erst die Membran gebildet. Mit der Ausbildung der Membran verschwindet auch der helle Hof; der neue Kern liegt in einem gleichmäßigen Plasma eingebettet (Fig. 53). In bezug auf seinen Bau gleicht er vollständig einem Pelomyxenkern, nur daß er bedeutend kleiner als ein solcher ist; er mißt nur 5 μ im Durchmesser gegen 10—12 μ bei einem normalen Kern. In diesem Stadium ist die Entwicklung des Gameten beendet, er braucht jetzt nur noch die ihn umgebende Membran zu durchbrechen, um frei zu werden. Es mag sein, daß dieser Vorgang der Auflösung der beiden Chromatinkugeln und der Einwanderung ihrer färbbaren Substanz in die „Kernvakuole“ etwas

Eigenartiges an sich hat, doch vermag ich den von mir beobachteten Bildern eine andere Erklärung nicht zu geben.

Einen Teil dieser soeben geschilderten Verhältnisse haben auch Korotneff und Penard schon bei *Pelomyxa* gefunden. Ich gehe hier nur auf die Arbeit von Penard näher ein, weil sie die Befunde Korotneff's vollständig mit einbegreift und auch noch darüber hinausgeht. Penard leitet indessen die Gameten oder „Embryonen" wie er sagt, nicht von den Kernen, sondern von den Glanzkörpern ab und schlägt in der Deutung der Entwicklung auch gerade den umgekehrten Weg ein, indem er die mit Hüllen versehenen Gebilde direkt als Glanzkörper auffaßt und sie sich weiter entwickeln läßt. Er schreibt darüber: „Ces corps de 12 à 15 μ de diamètre montraient d'abord une membrane incolore résistante que l'acide sulfurique à froid ne semblait pas dissoudre, et cette membrane était, sur la plupart des échantillons, divisée sur toute la surface en nombreuses facettes ou plutôt en replis que formaient un réticule laissant entre ses mailles des champs plus ou moins hexagonaux. De côté la membrane se montrait alors parcourue de petites ondulations. A l'intérieur de cette membrane se voyait un plasma très clair, mat, difficile à distinguer, dont la forme apparente était celle d'un croissant, et qui renfermait régulièrement un petit amas grisâtre, tirant sur le vert, rugueux, ratatiné et que l'on aurait pu prendre pour un amas de nourriture. Accolé à ce plasma et entouré par lui ou bien l'entourant comme une calotte discoide ou hémisphérique se voyait alors un gros corps d'un bleu tendre, mat, très pur, qui parfois montrait un noyau ou bien deux, sphériques, très petits, l'un à côté de l'autre. Ajoutons que tandis que le plasma en lunule se colorait facilement par le carmin le corps hémisphérique restait complètement incoloré."

Hierbei entspricht, nach diesen Angaben und den Abbildungen zu schließen, innerhalb der Membran das Plasma der Keimkugel mit den beiden Chromatinbrocken offenbar Penard's „gros corps d'un bleu tendre .... qui parfois montrait un noyau ou bien deux". Die beiden Kerne sind die Chromatinkugeln, die untereinanderliegend leicht wie eine einzige erscheinen können. Der freie Raum, von dem Penard gleich am Anfang spricht, tritt öfter auf, doch kann auch die ganze Hülle von Plasma erfüllt sein. An Nahrungskörper erinnernde Gebilde habe ich im Plasma innerhalb der Hülle nicht finden können.

Über die Entwicklung zu Gameten berichtet nun Penard weiter: „Le Glanzkörper grandit quelque peu, en même temps que la mem-

brane perd son apparence réticulée, devient tendue, s'amincit et semble enfin disparaitre. Pendant ce temps, le disque bleu non colorable décroit et ne se montre bientôt plus que sous la forme d'une petite masse brillante accolée au plasma colorable, puis disparait enfin complètement, tandis que le plasma ponctue colorable augmente de son côté et finit par former la masse entière du globule. A ce moment le Glanzkörper primitif est devenu une masse globuleuse, finement ponctuée en apparence dépourvue de membrane, et qui renferme toujours dans son intérieur et dans une position excentrique, un, deux ou très rarement trois petits grains, entourés d'un halo clair et probablement d'une membraue et qui se colore par le carmin beaucoup plus fortement que le reste de la masse; souvent aussi au lieu d'un ou de deux grains colorables on en trouve un seul avec un autre ou plusieur, beaucoup plus petits à ses côtés. Parfois il existe aussi une vacuole qui peut devenir très grande et qui sans doute représente une vésicule contractile mais très paresseuse".

Aus diesen Zeilen geht hervor, daß Penard zweifellos eine Reihe von Stadien der Entwicklung der Gameten gesehen hat, aber da er die Entwicklung aus den Kernen nicht kannte, auf eine abweichende Deutung gekommen ist und die mit der gefelderten Hülle versehenen Gebilde für die jüngeren, die hüllenlosen dagegen für spätere Entwicklungsstadien hält. Die hüllenlosen Stadien erscheinen in der Tat oft um ein weniges größer als die Mehrzahl der schon mit Hüllen versehenen, doch ist es sehr leicht denkbar, daß während und auch noch nach der Ausscheidung der Hülle eine Kontraktion erfolgt. Durch eine Kontraktion ist dann auch der Zwischenraum zwischen Hülle und Plasma entstanden zu denken, und daraus erklären sich auch die Einbuchtungen, welche die Membran zuweilen erfährt und denen gerade Korotneff besonderen Wert beilegt, ohne daß sie meiner Meinung nach von irgendwelcher Bedeutung sein können. Die beiden Körner, die Penard als immer in dem „Glanzkörper" excentrisch gelagert erwähnt, sind nichts anderes als die aus den Pronuklei zweiter Ordnung entstandenen und durch Wachstum vergrößerten Chromatinkugeln. Indessen scheint Penard hier außerdem zwei wohl äußerlich ähnlich aussehende Gebilde zu verwechseln. Denn daß die stark färbbaren Körner von einem hellen Hof und wahrscheinlich auch von einer Membran umgeben sein sollen, und daß neben dem einen größeren noch ein kleineres oder auch mehrere liegen sollen, drängt mir die Vermutung auf, daß Penard hier die beiden Pronuklei erster Ordnung mit ihren Centrosomen gesehen hat, und da diese ja im alten Pelomyxakern liegen, den ganzen Kern

mit einer Keimkugel verwechselt hat. Dies ist um so wahrscheinlicher, als alle diese Stadien, wie: erste Spindel, Pronuklei erster Ordnung, zweite Spindel, Pronuklei zweiter Ordnung und Keimkugeln, oft in derselben *Pelomyxa* anzutreffen sind. Endlich ist das als kontraktile Vakuole in den hüllenlosen Keimkugeln beschriebene Gebilde jedenfalls mit der Achromatinvakuole der Keimkugel identisch, was auch noch daraus hervorgeht, daß Penard selbst schreibt: „. . . . remarquous en même temps que, s'il existe souvent à l'intérieur de ces embryons une vacuole ou vésicule, on n'y observe pas de noyau.“ Dies ist dann natürlich auch nicht möglich, denn wie oben gezeigt wurde, entwickelt sich der Kern des Gameten erst in dieser vermeintlichen kontraktilen Vakuole.

Es ist hier vielleicht am Platze, den gesamten Vorgang der Spindelbildung und Ausbildung der Gameten etwas genauer vom Standpunkt der Chromidialtheorie nach den neuesten Anschauungen von Schaudinn zu betrachten.

Pelomyxa palustris gehört mit *Thalassicolla*, *Entamoeba coli* und vielen *Gregarinen*, wie z. B. *Clepsidrina ovata*, nach Schnitzler zu den Formen, bei denen, von anormalen Zuständen abgesehen, der Kerndualismus für gewöhnlich nicht ausgeprägt ist, also somatische und generative Kernsubstanz während des vegetativen Lebens in einem Kern vereinigt sind. Erst bei Beginn der Fortpflanzungsperiode tritt bei allen diesen Formen die Scheidung ein, und zwar, was die Art und Weise der Scheidung betrifft, bei *Pelomyxa* in derselben Weise wie bei *Entamoeba coli* und *Clepsidrina ovata*. Das somatische Chromatin wird aus dem Kern ausgestoßen, und nur das generative Chromatin bildet die Spindel. Anders ist es bei *Thalassicolla* und den meisten Protozoen, die schon neben dem Kern eine gesonderte Chromidialmasse besitzen wie *Arcella* und *Difflugia*. Bei ihnen enthält das Chromidium die Geschlechtskernsubstanz. Nun kommt aber bei *Pelomyxa* noch ein neues Moment hinzu, indem das aus dem alten Kern ausgestoßene Chromatin, das ich vorhin und auch früher als somatisches bezeichnete, wieder zur Bildung neuer Kerne befähigt ist, wie weiter oben gezeigt wurde. Man sieht sich also hier gezwungen, diesem ausgestoßenen Chromatin noch generative Elemente zuzuerkennen, wenn man nicht annehmen will, daß die in der Zeit der Fortpflanzung gebildeten Kerne nur rein vegetative Funktion haben. Mit dem Ausschlüpfen der Gameten und dem damit bedingten Abschluß der Fortpflanzungsperiode müßte dann das Muttertier zugrunde gehen oder zum wenigsten nicht mehr weiter fortpflanzungsfähig sein. Nach den an den Kulturen ge-

machten Beobachtungen scheint es allerdings so, als ob zum Ausschlüpfen der Gameten ein Absterben des Muttertieres nötig wäre. Ob dieses Absterben aber nicht lediglich ungünstigen Ernährungs- oder sonstigen Verhältnissen, wie sie sich beim Halten der Pelomyxen in den Deckglaskulturen nicht vermeiden lassen, zuzuschreiben ist, bleibt zu erwägen. Jedenfalls ist es wohl einleuchtender, wenn man annimmt, daß unter günstigen Bedingungen in der freien Natur ein Weiterleben des Muttertieres nach dem Auskriechen der Gameten stattfindet und dieses auch nach einer gewissen Zeit wieder zu erneuter Fortpflanzung befähigt ist. Die neugebildeten Kerne unterscheiden sich in ihrem Aufbau nicht im geringsten von den vor Eintritt der Fortpflanzungsperiode vorhandenen, und ich neige daher mehr zu der zuletzt geäußerten Ansicht hin, daß sie auch generative Elemente neben den vegetativen enthalten. Man müßte dann, wie das bereits auch früher schon einmal geschehen ist, für die ausgestoßenen Chromatinteile den Namen „somatogenerative Chromidien" wählen. Der Einfachheit halber und zur besseren Unterscheidung von dem rein generativen Chromatin der Spindeln habe ich die Bezeichnung somatische Chromidien in den meisten Fällen beibehalten.

Ist nun der Gamet in der Hülle vollkommen ausgebildet, so durchbricht er sie und gelangt nun in den Körper des Muttertieres. Die Fig. 54 zeigt dieses Auskriechen des Gameten sehr deutlich. Der größte Teil des Plasmas mit dem Kern ist bereits aus der Hülle herausgeflossen; nur ein kleiner Teil steckt noch in der Hülle, die jetzt, wo sie leer ist, zusammenfällt und ein runzliges Aussehen zeigt. Die früher ziemlich regelmäßigen Felder (Fig. 52) haben sich infolge des Zusammenfallens in die Länge gezogen und erscheinen jetzt ziemlich unregelmäßig. Der Gamet selbst zeigt ein ziemlich dichtes Plasma, das im Präparat keine weitere Differenzierung erkennen läßt, und einen typischen Kern. Er bewegt sich, wie auch die Figur erkennen läßt, amöboid. Die leeren Gametenhüllen werden von der *Pelomyxa* wahrscheinlich sehr bald ausgestoßen, denn man findet sie nur selten noch im Körper. Die Gameten dagegen scheinen noch längere Zeit im Mutterkörper zu bleiben. Ähnliche Verhältnisse beschreibt Penard für *Pelomyxa vivipara*, wo auch die „Embryonen" im Mutterkörper lebhaft umherkriechen, um ihn bei Gelegenheit zu verlassen.

Das Auskriechen der Gameten aus dem Körper der *Pelomyxa* habe ich denn auch verschiedene Male beobachten können, ähnlich wie Greeff, Korotneff und Penard es bereits beschrieben haben. Die Angaben Penard's stimmen am besten mit meinen Resultaten

überein, indem auch ich keine übergroße Anzahl auskriechen sah, jedenfalls nicht solche Massen, wie sich nach der Greeff'schen Abbildung sollten vermuten lassen. Immerhin schätze ich die Zahl der aus einer einzigen Pelomyxa hervorgegangenen Gameten auf etwa 100.

Die Pelomyxen, an denen ich das Ausschlüpfen der Gameten beobachtete, wurden seit einiger Zeit in den früher schon erwähnten Kulturen auf einem Objektträger unter einem Deckglas mit Wachsfüßchen gehalten. Am 3. Januar wurden zwei solche Kulturen mit sieben resp. acht Pelomyxen angelegt. Die Tiere zeigten zunächst nichts Auffälliges, sie krochen ziemlich lebhaft umher und schienen sich ganz wohl zu fühlen. Nach 6 Tagen, am 9. Januar, waren von den sieben Tieren in Kultur I noch vier am Leben, die übrigen waren unter den gewöhnlichen Erscheinungen abgestorben, vielleicht unter Bildung von Gameten, doch konnte ich dies nicht nachweisen, da ich in den Tieren selbst keine Gameten mehr vorfand und auf etwa in dem umgebenden Wasser vorhandene Gameten nicht genügend achtete, weil ich deren Ausschlüpfen bisher noch nicht beobachtet hatte. Auch in Kultur II waren drei Tiere abgestorben, während die übrigen fünf noch munter umherkrochen. Sie hatten jedoch, wie dies nach längerem Halten in den Kulturen immer der Fall zu sein pflegt, fast sämtliche Nahrungsballen ausgestoßen und auch nur noch wenige Steinchen im Körper. Die Glanzkörper waren infolge des Nahrungsmangels auch schon bedeutend kleiner geworden. Die Reste der zerfallenen Pelomyxen wurden sehr rasch von den massenhaft in den Kulturen auftretenden Infusorien aufgezehrt. Am 12. Januar waren endlich in Kultur I noch drei Pelomyxen übrig. Am Morgen des 13. Januar bot sich mir bei einer dieser drei überlebenden das Bild des Auskriechens der Gameten. Im Körper der *Pelomyxa* sah man deutlich zahlreiche rundliche Körper liegen, die in ihrem Innern einige stark lichtbrechende Körner zeigten und sich langsam in amöboider Weise bewegten. Sie näherten sich allmählich immer mehr dem Rand des Muttertieres, und nach Verlauf von zwei Stunden hatten es alle Gameten verlassen und waren im freien Wasser davongeschwommen.

Einige Tage vorher hatte ich einige Polomyxen unter dem Deckglas beobachtet und bei einer von ihnen mir verdächtig erscheinende runde Gebilde im Innern gefunden. Da es mir hauptsächlich auf die Beobachtungen im lebenden Zustand ankam, isolierte ich das Tier und brachte es in filtriertem Kulturwasser auf einen Objektträger unter Deckglas mit Wachsfüßchen. Es lebte noch bis

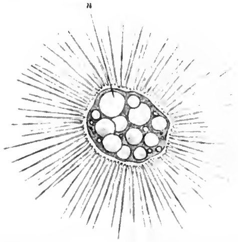
zum 15. Januar, und hier sah ich das Auskriechen der Gameten zum zweiten Male. Das Bild, das sich mir bot, habe ich in Fig. 78 festzuhalten versucht. Es war ein verhältnismäßig kleines Exemplar von *Pelomyxa*, und die Zahl der Gameten war hier nicht so groß wie im ersten Fall. Auch war die mittlere Partie des Tieres, wie auch aus der Figur ersichtlich, ziemlich dicht und undurchsichtig. Am Rand dagegen konnte man die Gameten deutlich liegen und sich bewegen sehen. Immer mehr dieser kleinen runden Körperchen kamen aus dem undurchsichtigen Innern heraus, passierten die Randpartie und traten dann auch aus dieser in das Wasser über, um alsbald davonzuschwimmen.

Zur Kontrolle dieser beiden Fälle setzte ich nun verschiedene neue Kulturen an, um vielleicht noch öfter das Ausschlüpfen der Gameten beobachten zu können. In allen Fällen wurden die aus dem Schlamm mit wenig Wasser herausgenommenen Pelomyxen in filtriertes Kulturwasser übertragen und einige Zeit stehen gelassen, dann nochmals in filtriertes Kulturwasser gebracht und schließlich mit möglichst wenig Wasser in eine neue Kultur eingesetzt, und der Raum zwischen Deckglas und Objektträger mit sorgfältig noch einmal filtriertem Kulturwasser ausgefüllt. Das Filtrieren des Wassers geschah, um möglichst alle anderen Organismen, wie Infusorien u. dergl., fernzuhalten, aber dabei durch Anwendung desselben Wassers nach Möglichkeit die natürlichen Bedingungen zu erhalten. Der Erfolg dieses Verfahrens war in allen Fällen der gleiche. Schon nach zwei Tagen in einer Kultur, nach drei Tagen in einer zweiten und nach vier Tagen in zwei weiteren Kulturen konnte ich das Auftreten der Gameten und auch ihre später noch zu besprechende weitere Entwicklung in Übereinstimmung mit den Kulturen I und II beobachten. Das Ausschlüpfen selbst habe ich in den neuen Kulturen nur noch einmal beobachten können, doch lassen die anderen, mit den ersten Beobachtungen vollständig übereinstimmenden Resultate an der Identität der dort gefundenen Gameten mit den zuerst entdeckten keinen Zweifel zu. Nachdem ich auf diese Weise das Aussehen der Pelomyxengameten kennen gelernt hatte, war es nicht mehr schwer, sie oder wenigstens ihre weiteren Entwicklungsstadien in manchen anderen älteren Kulturen anzufinden.

Man könnte bei den vorstehend geschilderten wie bei den früheren Beobachtungen anderer Autoren leicht auf die Vermutung kommen, daß es sich um der *Pelomyxa* fremde, vielleicht als Parasiten in ihr lebende oder als Cysten in sie hineingelangte Protozoen handeln möge, die zu einer gewissen Zeit aus ihr hervortreten, und tatsäch-

lich ist die bekannte Beobachtung und Abbildung GREEFF's mehr so aufgefaßt worden, als daß man bei ihr an wirkliche Fortpflanzungskörper der *Pelomyxa* glaubte. Der im vorstehenden Abschnitt geführte Nachweis ihrer ganz allmählichen Herausbildung im Pelomyxenkörper widerlegt eine derartige Vermutung znr Genüge.

Die eben ausgeschlüpften Gameten sind ebenso groß oder nur wenig größer als diejenigen, die ich in Präparaten nachweisen konnte. Der Durchmesser der letzteren war 12—13 μ, während viele der eben ausgeschlüpften 13—15 μ groß waren. In den Figuren ist die Größendifferenz nnr eine scheinbare, da von Fig. 55 ab eine viel schwächere Vergrößerung verwandt wurde. Die nachstehende Textfigur dagegen ist ungefähr mit derselben Vergrößerung wie die Fig. 53 nnd 54 entworfen. Sie zeigt einen Gameten etwa drei Stunden nach dem Ausschlüpfen, durch Nahrungsaufnahme schon etwas vergrößert. Eine stärkere Vergrößerung bei den Fig. 55—77 anzuwenden war nnmöglich, da wegen des verhältnismäßig großen Abstandes des Deckglases vom Objektträger die Anwendung eines stärkeren Objektivs ausgeschlossen war.



Gamet, drei Stunden nach dem Auskriechen aus der Pelomyxa.
n = Nahrungskörper. Vergr. ca. 1400.

Die in Wirklichkeit geringe Größendifferenz ist dadnrch zu erklären, daß die Gameten längere Zeit im Mutterkörper frei gelebt haben und von diesem auch ernährt worden sind und sich dabei wohl auch vergrößert haben. Äußerlich betrachtet fällt indessen

ein gewisser Unterschied auf. Das Plasma der eben aus den Hüllen kriechenden Gameten war frei von Nahrungskörpern, während beim Ausschlüpfen aus der abgestorbenen Pelomyxa immer einige stärker lichtbrechende Körner im Gametenplasma vorhanden sind, die ich nur als Nahrungskörper deuten kann. Ich halte es nicht für unwahrscheinlich, daß der im Mutterkörper liegende Gamet Teile von diesem, vielleicht sogar Glanzkörper als Nahrung aufnimmt.

Die noch nicht ausgeschlüpften Gameten zeigen meit kugeliges, zuweilen auch amöboides Aussehen. Sobald sie die Pelomyxa verlassen haben, beginnen sie sehr dünne radiale Pseudopodien auszustrecken, die meist ebenso groß wie der Körperdurchmesser werden. Die Gameten bekommen dadurch geradezu ein heliozoenähnliches Aussehen, doch fehlen ihnen die sonstigen Haupteigenschaften echter Heliozoen, wie Achsenfäden und Differenzierung des Plasmas in zwei Schichten. Auch die weitere Ausbildung ist, wie noch gezeigt werden wird, eine ganz andere wie bei einem Heliozoon. Ähnliche Pseudopodienbildung im Bereich der Amöben finden sich bei *Amoeba vitraea* (Hertwig u. Lesser) [= *Dactylosphaerium vitraea* Hertwig u. Lesser = *Amoeba polypodia* F. E. Schulze] nach Penard, sowie auch bei *Amoeba radiosa* und *Gloïdium horridum* spec. nov. Penard. Aber selbst bei großen *Pelomyxen* finden sich dünne spitze Pseudopodien, wenn auch im Verhältnis nicht so lang wie diese Gametenpseudopodien. In einigen Fällen konnte ich an großen Tieren sogar spitze verästelte Pseudopodien nachweisen. Die Ausbildung dieser dünnen Pseudopodien dürfte also für *Pelomyxa* nicht als fremdartig anzusehen sein, zumal, wie später sich zeigen wird, die dünnen Pseudopodien in dickere, mehr lappige direkt übergehen.

Was die sonstigen Bauverhältnisse der Gameten betrifft, so läßt sich im lebenden Zustande nur wenig mehr erkennen. Das Plasma erscheint sehr fein granuliert, verschwindet aber bei den meisten Gameten fast vor der Menge der aufgenommenen Nahrungskörper. Man kann bei stärkerer Vergrößerung, wie die Textfigur zeigt, eine Scheidung in eine dünne hyaline Außenschicht und ein körniges Innenplasma erkennen. Vom Kern sieht man hier nichts, doch ist er in vielen Fällen, wenn das Plasma nicht so sehr von Nahrung erfüllt ist, deutlich zu sehen. Er erscheint dann, wie in Fig. 56 schwach angedeutet ist, als kleines helles Bläschen im Centrum der Plasmamasse. Ich habe von den Gameten, wie auch von den weiteren Entwicklungsstadien verschiedentlich Präparate anzufertigen versucht, doch geben sie keine sehr klaren Bilder. Der Kleinheit der Objekte wegen konservierte ich die auf den Objektträger gebrachten Gameten

mit Osmiumdämpfen und ließ sie dann eintrocknen. Gefärbt wurden sie dann mit Boraxkarmin, doch erwiesen sich die Gameten in den meisten Fällen als geschrumpft. Soviel man von den Kernen erkennen konnte, stimmt ihr Bau mit dem der in Fig. 53 u. 54 gegebenen Gameten überein. Eine andere Methode der Konservierung und Färbung noch zu versuchen, erlaubte mir leider meine ziemlich beschränkte Zeit nicht, doch hoffe ich später auch hierüber noch näher berichten zu können. Zunächst kam es mir hauptsächlich darauf an, die Gameten und ihre Weiterentwicklung im Leben zu studieren, was mir denn auch bis zu einem gewissen Grade gelungen ist.

Wie bereits erwähnt, nahm das Ausschlüpfen der Gameten aus der Pelomyxa ungefähr zwei Stunden in Anspruch, da die Bewegung der Gameten, wie auch Penard angibt, eine ziemlich langsame ist. Nach dem Auskriechen bewegten sie sich langsam vom Mutterkörper fort und zerstreuten sich in der Kultur, wobei sie die in der Kultur vorhandenen Partikel organischer Substanzen in sich aufnahmen. Trafen nun in der Kultur zwei Gameten zusammen, so vollzog sich der Vorgang, der mich veranlaßte, die kleinen Fortpflanzungskörper der *Pelomyxa* mit dem Namen „Gameten“ zu belegen. Die beiden Gameten treten nämlich miteinander in Verbindung, und es erfolgt nun eine Kopulation. Es verschmelzen zunächst die Plasmaleiber und dann auch die beiden Kerne vollständig. In Fig. 57 ist der Beginn der Kopulation dargestellt; Fig. 58 zeigt die Verschmelzung der plasmatischen Substanz nach einer halben Stunde, und endlich Fig. 59 die vollendete Kopulation, vollständige Plasmo- und Karyogamie, nach Verlauf von zwei Stunden. Die drei Figuren geben das Verhalten derselben Gameten während dieser zwei Stunden. Die Größe der Einzelgameten beträgt bei der Kopulation gewöhnlich 18—20 μ, die entstandene Kopula mißt 25—28 μ im Durchmesser. Auch in betreff der Kopulation ist es mir nicht möglich gewesen, näheres über den Vorgang der Kernverschmelzung zu erfahren, da die Präparate auch hier versagten. Es ist indessen anzunehmen, daß die Verschmelzung ziemlich einfach verläuft, da ja schon vorher im Körper der Pelomyxa alle jene Vorgänge sich abgespielt haben, die sonst bei vielen Protozoen gewöhnlich erst in diesem Zeitpunkt der Vereinigung zweier Individuen einzutreten pflegen.

Die Pseudopodien zeigen während und kurz nach der Kopulation noch dieselbe Struktur wie die Einzelgameten, werden aber jetzt schon verkürzt und gleichzeitig verdickt. Die Zygote ist in den meisten Fällen noch kugelig, daß sie indes auch amöboide Bewegungen

ausführt, zeigt die Fig. 60. Der Kern der Zygote ist ziemlich groß und scheint sich bei weiterem Wachstum der Zygote auch noch zu vergrößern. Das Plasma erscheint fein granuliert und enthält wie das der Gameten immer einige Nahrungskörper, die als stark lichtbrechende Kugeln erscheinen. Ob diese Kugeln schon als Glanzkörper zu deuten sind, wage ich nicht zu entscheiden, da es auch auf Präparaten schwierig ist, darüber etwas Sicheres auszusagen. Die Glykogenreaktionen ließen sich wegen der Kleinheit des Objektes nicht gut anstellen; mit Boraxkarmin erschienen sie schwach rötlich gefärbt.

Die Hauptveränderungen, die sich an den Zygoten jetzt bemerkbar machen, sind Größenzunahme und Umbildung der Pseudopodien. Schon zwei Tage nach dem Ausschlüpfen konnte ich in den betreffenden Deckglaskulturen Formen finden, die bedeutend dickere kurze Pseudopodien zeigten, wie in Fig. 60 und 61 deutlich zu erkennen ist. Auch das Wachstum war ein sehr schnelles, denn schon nach acht Tagen waren Individuen von 40 μ Durchmesser durchaus nicht selten. Die dünnen Pseudopodien der Gameten waren jetzt gänzlich verschwunden und die Mehrzahl der Tiere zeigte kleine lappige Fortsätze (Fig. 64—68). Selbst die noch nicht kopulierten Gameten bildeten allmählich ihre Pseudopodien um, wie dies aus Fig. 56 deutlich hervorgeht. Der Kern war bei den meisten Zygoten als ein ziemlich großes, etwas stärker lichtbrechendes Bläschen im Plasma zu erkennen.

Dieses Stadium der Entwicklung wurde von einer großen Anzahl der Zygoten erreicht. Für viele war es auch das Ende, denn sie gingen zugrunde. Nur wenige erreichten eine Größe von 50 μ und darüber, wie die beiden in den Fig. 67 u. 68 dargestellten Tiere. Diese beiden Tiere wurden am 22. Januar in der oben erwähnten Kultur, also neun Tage nach dem Ausschlüpfen beobachtet. Am nächsten Tage zeigte das in Fig. 77 wiedergegebene nicht mehr einen Kern, sondern vier Kerne (Fig. 69). Zur selben Zeit fand ich auch ein Tier mit zwei Kernen. Die in Fig. 67 noch deutlichen glänzenden Körper waren jetzt verschwunden, wohl waren noch einige kleinere Körner vorhanden, aber das Plasma war gleichmäßiger geworden. Die Pseudopodien waren auch eingezogen, und nur ein schwacher hyaliner Saum umgab das Tier. Man wird in der Erklärung dieser Erscheinung kaum fehlgehen, wenn man das Tier als eine junge Pelomyxa bezeichnet, der allerdings vorläufig noch einige charakteristische Eigenschaften zu fehlen scheinen, nämlich die Glanzkörper und vielleicht die symbiotischen Bakterien. Ob letztere nicht doch vorhanden waren, kann ich nicht sagen, weil

ich bei der angewandten Vergrößerung kaum etwas davon hätte sehen können, da es sich immer um Tiere handelte, die sich in der Kultur befanden. Was das Fehlen der Glanzkörper betrifft, so ist auch dieser Umstand leicht erklärlich. Es waren in den Kulturen wohl Infusorien und Bakterien vorhanden, aber es fehlte fast gänzlich an pflanzlicher, für das nur sehr langsam sich bewegende Tier leicht zu erlangender Nahrung. Da nun die Glanzkörper Reservenahrungsbehälter sind, so konnte natürlich von einer Nahrungsaufspeicherung gar nicht die Rede sein, da die zum Vegetieren nötige Nahrung nicht einmal vorhanden war. Es ist wohl auf diesen Nahrungsmangel zurückzuführen, daß die beiden mehrkernigen Tiere wie auch ein Teil der anderen in kurzer Zeit zugrunde gingen. Die übrigen blieben einkernig und schieden sehr bald, wohl auch durch die ungünstigen Bedingungen gezwungen, eine Cystenhülle ab, wie die Fig. 70 sie zeigt. Die Hülle ist gefeldert, wie auch die Gametenhülle, aber jedes Feld zeigt hier noch einen kugeligen Höcker. Im Innern erkennt man gewöhnlich den Kern als heller erscheinendes Bläschen, umgeben von einem sehr feinkörnigen Plasma. Die Nahrungskörper sind auch hier meist verschwunden, vielleicht wurden sie vor der Bildung der Cyste ausgestoßen.

Die Cysten sind wie die mancher anderen Amöben als Ruhecysten oder Dauercysten aufzufassen, die nur dazu dienen, eine ungünstige Vegetationsperiode zu überstehen. Daß ihnen für die Fortpflanzung noch irgend eine andere Bedeutung zukäme, ist nicht anzunehmen, und das weitere Verhalten der Cysten hat dies auch bestätigt. Alle für die Befruchtung wichtigen Vorgänge haben sich schon lange vorher abgespielt; die Reifung und Ausbildung der Gameten in der *Pelomyxa* und die Kopulation kurz nach dem Ausschlüpfen der Gameten. Da die Gameten in großer Zahl gebildet werden, so ist eine weitere Vermehrung in der Cyste, vielleicht durch Zerfallteilung wie bei *Amoeba proteus* nach Scheel, kaum mehr nötig.

Am 29. Januar traten die ersten Cysten in den Kulturen auf, und bis zum 10. Februar waren keinerlei Veränderungen an den Kernen wahrzunehmen. Auch später noch, als einige der Tiere aus den Cysten auskrochen, hatten sie nur einen Kern.

Das Auskriechen der Tiere aus den Cysten geht nur sehr langsam vor sich. Fig. 71 zeigt eine normale Cyste, während in Fig. 72 schon das Ausschlüpfen vorbereitet wird. An einer Stelle wird die Cystenwand etwas vorgebuchtet und zerreißt hier schließlich. Durch die entstandene Öffnung beginnt dann der Inhalt allmählich aus-

zufließen. Die Fig. 73—75 geben einige Stadien des beginnenden Ausschlüpfens, aber bis jetzt ist es mir trotz eifriger Bemühung nicht gelungen, ein vollständig ausgeschlüpftes Tier zu erhalten. Die meisten gingen während des Auskriechens zugrunde oder kurz nachher. Einen solchen Fall stellt die Fig. 75 dar. Das Tier hat schon mit dem größten Teil seines Körpers die Hülle verlassen, und nur ein kleiner Teil befindet sich noch innerhalb der Hülle. Aber zum vollständigen Auskriechen ist es nicht gekommen, der Teil des Körpers, der außerhalb der Cyste sich befindet, ist vollständig aufgelöst, während der innerhalb befindliche nur noch schwache Konturen zeigt. Einige Tage darauf fanden sich neben vielen vollen auch eine Anzahl leerer Hüllen, aber ohne daß ich in der Kultur mit Bestimmtheit ihren früheren Inhalt hätte nachweisen können. Es traten zwar ungefähr zur selben Zeit kleine Amöben auf, die auch erst einkernig waren, später zwei- und dreikernig wurden (Fig. 76 u. 77), doch konnte ich bis jetzt noch keinen direkten Zusammenhang mit den Cysten nachweisen, auch glaube ich nicht, daß ein solcher besteht, da die Amöben kontraktile Vakuolen zeigten. Es scheint, daß die Bedingungen in der Kultur für die ausschlüpfenden Cysten derartig ungünstige waren, daß sie nicht weiterkommen konnten und in vielen Fällen die Tiere schon abstarben, ehe sie überhaupt die Cystenhülle ganz verlassen hatten. Ich muß mich also wohl damit begnügen, vorläufig die Entwicklung von *Pelomyxa palustris* bis zu diesem Punkte verfolgt zu haben.

In betreff der Jahreszeit, in der die Fortpflanzung von *Pelomyxa* stattfindet, läßt sich noch nichts Bestimmtes sagen; wahrscheinlicherweise kann die Fortpflanzung in jeder Jahreszeit erfolgen, denn ich habe Gameten im Innern der *Pelomyxa* sowohl im November wie auch im Februar gefunden, während sie Penard im Juni gesehen hat. Es wird also wohl nicht die Jahreszeit, sondern eine gewisse Fortpflanzungsreife der Tiere sein, die die Bildung der Gameten veranlaßt.

Zum Schluß möchte ich nicht versäumen, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Korschelt für die Unterstützung während meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Auch Herrn Dr. Meisenheimer und Herrn Dr. Tönniges möchte ich an dieser Stelle noch einmal für das mir entgegengebrachte Interesse danken.

Literaturverzeichnis.

1) Blochmann, F.: Kleine Mitteilungen über Protozoen. Biol. Centralbl. 14. Bd. p. 82—91 1894.
2) Engelmann: Über Reizung kontraktilen Protoplasmas durch plötzliche Beleuchtung. Pflüger's Arch. Bd. XIX 1879.
3) Goldschmidt, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905 H. 4.
4) Gonder, R.: Beiträge zur Kenntnis der in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.
5) Gould, Lilian J.: Notes on the Minute Structure of Pelomyxa palustris Greeff. A. Journ. of Micr. Sc. Vol. 36 1893.
6) Greeff, R.: Über Actinosphaerium Eichhornii und einen neuen Süßwasserrhizopoden. Arch. Mikr. Anat. Bd. III 1867.
7) —: Pelomyxa palustris ein amöbenartiger Organismus. Arch. Mikr. Anat. Bd. X 1874.
8) Gruber, A.: Über Kernteilungsvorgänge bei einigen Protozoen. Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 38 1883.
9) —: Amöbenstudien. Ber. d. Naturf.-Gesellsch. Freiburg i. Br. Bd. VIII 1894.
10) Hartog, M. & A. E. Dixon: On the Digestive Ferments of a large Protozoen. Rep. 63 Meet. Brit. Ass. Adv. Sc. 1894.
11) Hertwig, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. Abh. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. XIX 1898.
12) Israel, O.: Über eigenartige Kontraktionserscheinungen bei Pelomyxa palustris. Arch. Mikr. Anat. 44. Bd. 1894.
13) Korotneff: Etudes sur les Rhizopodes. Arch. de zool. exper. et gen. Vol. 8 1879.
14) Leidy: Fresh-water Rhizopods of North-America 1879. U. St. Geolog. Survey of the Territories Vol. 12.
15) Penard, Eug.: Les Rhizopodes de faune profonde dans le lac Léman. Revue Suisse Z. Tome 7 1900.
16) —: Notes complementaires sur les Rhizopodes du Léman. Revue Suisse Z. Tome 9 1901.
17) —: Faune rhizopodique du bassin du Léman. Genève 1902.
18) Prandtl: Reduktion und Karyogamie bei Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. XXV Nr. 5 1905.
19) Prowazek: Amöbenstudien. Biol. Centralbl. Bd. XVII 1897.
20) —: Studien über Säugetiertrypanosomen. I. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte V. 22 1905.
21) Rhumbler: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 57 1894.
22) Schaudinn, F.: Die Fortpflanzung der Foraminiferen und eine neue Art der Kernvermehrung. Biol. Centralbl. 1894.
23) —: Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung bei Amoeba crystalligera Gruber. Sitz.-Ber. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin 1894.
24) —: Über die Teilung von Amoeba binucleata Gruber. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Fr. Berlin 1895 Nr. 6.
25) —: Über den Zeugungskreis von Paramoeba eilhardi n. g. n. sp. Sitz.-Ber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin 1896 II.

26) Schaudinn, F.: Über die Kopulation von Actinophrys sol. Ibid. 1896.
27) —: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Protozoen. Arch. Phys. Pflüger Bd. 77 1899.
28) —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIX 1903.
29) —: Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verhandl. d. D. Z. Ges. 1905.
30) Scheel, C.: Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. Festschr. f. C. v. Kupffer 1899.
31) Schnitzler, H.: Über die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.
32) Schulze, F. E.: Rhizopodenstudien. Arch. f. Mikr. Anat. Bd. XI 1875.
33) Stolc, Ant.: Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlehydrate in einem amöbenartigen Organismus, Pelomyxa palustris Greeff. Zeit. Wiss. Z. Bd. 68 1900.
34) Wilson, H. V.: Notes on a Species of Pelomyxa. Amer. Natural. Vol. 34 1900.
35) Zuelzer, Margarete: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter. Arch. f. Protistenk. Bd. IV 1904.
36) —: Über die Einwirkung der Radiumstrahlen auf Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.

Tafelerklärung.

Fig. 1—54 sind nach Schnittpräparaten mit dem Zeichenprisma gezeichnet bei Anwendung von Comp. Oc. 8 und Homog. Imm. $^{1}/_{18}$ Reichert. Vergr. ca. 2200. Färbung nach Heidenhain.

Fig. 1. Glanzkörper, Chromidien und Bakterien im Plasma der Pelomyxa.

Fig. 2. Kernauflösung, Membran auf einer Seite gelöst. Auswandern von vegetativen Chromidien, die schon Zerfallserscheinungen zeigen.

Fig. 3 u. 4. Vegetative Chromidien.

Fig. 5—10. Entwicklung eines neuen Kerns aus einem somatogenerativen Chromidium.

Fig. 11. Normaler Pelomyxenkern.

Fig. 12—16 generative Veränderungen des Kerns unter Bildung von somatogenerativen Chromidien.

Fig. 12, 13 u. 14. Zusammenballen des Chromatins zu größeren Brocken.

Fig. 15. Ausstoßung der Chromatinbrocken aus dem Kern und Bildung der somatogenerativen Chromidien.

Fig. 16. Erstes Auftreten der ersten Spindel im Kern.

Fig. 17. Erste Spindel in horizontaler Lage mit fünf Chromosomen.

Fig. 18 u. 19. Erste Spindel schräg von oben gesehen.

Fig. 20. Polansicht der ersten Spindel; in der Äquatorialplatte acht Chromosome.

Fig. 21 u. 22. Bildung der Tochterplatten aus der ersten Spindel.

Fig. 23—25. Pronuklei erster Ordnung in verschiedener Lage zueinander.

Fig. 25. Beginn der Teilung der Centrosome.

Fig. 26—28. Ausbildung der Centralspindeln durch die sich teilenden Centrosome.

Fig. 28. Bildung der zweiten Spindeln durch Einrücken des Chromatins in die Centralspindel.

Fig. 29. Die zweiten Spindeln fertig ausgebildet.

Fig. 30. Zwei zweite Spindeln, Äquationsteilung bei der einen sichtbar.

Fig. 31. Eine der Spindeln schräg von oben mit den vier Chromosomen, die andere in Teilung.

Fig. 32. Polansicht einer zweiten Spindel; vier Chromosome.

Fig. 33. Tochterplatten der zweiten Spindeln.

Fig. 34. Pronukleus zweiter Ordnung.

Fig. 35—40. Vergrößerung der Chromatinkugel und Teilung in zwei Kugeln.

Fig. 41. Auftreten der Achromatinvakuole und Einwandern des Centrosomas in die Vakuole.

Fig. 42—45. Keimkugeln in verschiedenen Größen mit noch wenig färbbarer Vakuole.

Fig. 46. Keimkugel mit Hülle versehen; von den beiden Chromatinkugeln ist nur eine sichtbar.

Fig. 47. Vakuole infolge der Einwanderung von Chromatin dunkel gefärbt.

Fig. 48. Ansammlung der chromatischen Substanz im Centrum der Vakuole unter Bildung feiner Chromatinkörnchen.

Fig. 49. Wachsen der Körnchen unter gleichzeitiger Verkleinerung der beiden Chromatinkugeln außerhalb.

Fig. 50. Bildung größerer Brocken.

Fig. 51. Die größeren Chromatinbrocken beginnen sich peripher zu ordnen. Von den Chromatinkugeln gehen dunkel färbbare Streifen aus nach dem sich ausbildenden Kern.

Fig. 52. Polygonal gefelderte Hülle um die Keimkugeln.

Fig. 52a. Dasselbe Stadium; die Hülle ist hier nicht mit eingezeichnet. Einwandern der auf die ursprüngliche Größe verkleinerten Chromatinkugeln in den Kern.

Fig. 53. Ausgebildeter Gamet. Kern mit Membran versehen.

Fig. 54. Das Ausschlüpfen eines Gameten aus der Hülle im Körper der Pelomyxa.

Fig. 55—77 sind mit dem Abbé'schen Zeichenapparat bei ca. 400facher Vergrößerung mit Oc. II Obj. 5 Seibert entworfen.

Fig. 55. Eben ausgeschlüpfter Gamet.

Fig. 56. Gamet nach zwei Tagen mit kurzen Pseudopodien.

Fig. 57. Zwei Gameten in Kopulation.

Fig. 58. Dieselben Gameten eine halbe Stunde später.

Fig. 59. Die Kopulation derselben Gameten nach zwei Stunden vollendet.

Fig. 60. Zygote in amöboider Bewegung mit etwas verkürzten Pseudopodien.

Fig. 61. Ältere Zygote. Pseudopodien kürzer und dicker.

Fig. 62—68. Durch weiteres Wachstum noch vergrößerte Zygoten.

Fig. 64—68. Pseudopodien kurz und lappig.

Fig. 67. Kern stark gewachsen.

Fig. 69. Dasselbe Tier wie in Fig. 67 jetzt mit 4 Kernen.

Fig. 70. Cystenbildung der Zygoten. Cystenhülle gefeldert mit Höckern.

Fig. 71. Cyste im optischen Querschnitt.

Fig. 72—75. Verschiedene Stadien des Auskriechens der Cysten.

Fig. 76 u. 77. In der Kultur kurz nach dem Ausschlüpfen der ersten Cysten auftretende Amöben in zwei- und dreikernigem Zustand.

Fig. 78. Pelomyxa mit eben auskriechenden Gameten mit dem Abbé'schen Zeichenapparat bei ca. 250facher Vergrößerung mit Oc. III Obj. 3 Seibert gezeichnet.

Les Schizogrégarines des Trachéates.
I. Le genre Ophryocystis.

Par
Louis Léger,
Professeur de Zoologie à l'Université de Grenohle.

(Avec les Planches V—VIII et 13 figures dans le texte.)

Table des matières.

Avant-Propos.

A la suite d'une note sur *Schizocystis gregarinoïdes* Léger, Grégarine schizogonique parasite des larves de *Ceratopogon* (Dipt.) (1900) j'ai proposé de diviser les Grégarines en deux sous-ordres:

Les Schizogrégarines présentant une multiplication schizogonique dans l'hôte, et les Eugrégarines qui en sont dépourvnes.

Chez ces dernières, qui comprennent, comme on le sait, la plupart des Grégarines actuellement connnes, le développement est donc monogénétique c. à. d. que le sporozoïte primitif ne donne naissance qu'a un seul gamonte, la Grégarine adulte, ainsi que l'ont montré de nombreuses recherches expérimentales précises [Cuénot (1897), Léger et Duboscq (1901, 1902, 1904)] etc.; tandis que chez les premières on Schizogrégarines, le développement est polygénétique, le sporozoïte primitif donnant naissance, à la suite de schizogonies successives, à un grand nombre de gamontes. Il en résulte une pullulation rapide du parasite dans l'hôte quand bien même celui-ci n'aurait absorbé qu'un seul sporocyste c. à. d. un petit nombre de sporozoïtes. On sait qu'il en est de même chez les Coccidies, de sorte que Schizogrégarines et Coccidies sont des Télosporidies produisant toujours des infections intenses. C'est ainsi que dans la plupart des larves de *Ceratopogon* infestées par *Schizocystis* l'intestin est bondé de parasites au point qu'il en est parfois complètement obstrué. Le même phénomène s'observe aussi dans les tubes de Malpighi des Coléoptères infestés par les *Ophryocystis*. Toutefois, il est à remarquer dès maintenant, que dans ces deux cas et contrairement à ce qui s'observe pour les infections coccidiennes, l'épithélium des cavités atteintes ne parait pas présenter d'altérations notables, ce qui est dû au mode de vie extracellulaire de ces parasites.

Les seules Schizogrégarines actuellement bien connues, au moins en ce qui concerne les grandes lignes de leur évolution, sont parasites des Insectes. Elles se rangent sous deux genres: 1° Le genre *Ophryocystis* des tubes de Malpighi des Coléoptères; 2° le genre *Schizocystis* de l'intestin d'une larve de Diptère (*Ceratopogon*).

Les Trachéates cependant ne sont sans doute pas les seuls hôtes hébergeant ces intéressants organismes. Les observations de Caullery et Mesnil sur *Gonospora* (1898) et *Siedleckia* (1899) celles de J. Nusbaum sur *Schaudinella* (1903) et surtout celles de Brasil sur *Joyeuxella* (1902) et sur *Eleutheroschizon* (1906) laissent en effet suffisamment pressentir que chez les Annélides, d'ailleurs si riches en sporozoaires de toutes sortes, il existe aussides formes grégariniennes schizogoniques.

Malheureusement, l'évolution de ces divers parasites n'a pas encore été suivie d'une façon assez complète ou avec suffisamment de précision pour qu'il soit permis de les classer avec certitude dans le groupe qui nous occupe. En conséquence, je ne m'occuperai dans ce travail que des Schizogrégarines des Insectes, les seules dont l'interprétation ne laisse, à l'heure actuelle, aucune place au doute et sur l'histoire desquelles nous ne possédons cependant encore que des documents fragmentaires et fort incomplets.[1]

C'est cette lacune que je me suis efforcé de combler dans le présent mémoire lequel est consacré spécialement au genre *Ophryocystis*. Le genre *Schizocystis* fera l'objet d'un travail ultérieur.

Le genre Ophryocystis.

I.

Historique.

Les *Ophryocystis* ont été découverts par A. Schneider. Dans trois courtes note sparues à peu de distance, A. Schneider nous fit d'abord connaître *l'Oph. bütschlii* d'un *Blaps* indigène (1883, 1884) puis *l'Oph. Francisci* des *Akis* d'Algérie (1885). Malgré le peu de matériel dont il avait pu disposer, car les *Ophryocystis* sont des parasites rares, et au milieu du chaos des formes multiples et déconcertantes que présentaient ces organismes en l'état de nos connaissances à l'époque où il les trouvait, A. Schneider sut pressentir, avec une admirable perspicacité, les traits les plus essentiels de leur évolution c'est à dire la schizogonie et la gamogonie.

Toutefois, certains des caractères morphologiques les plus remarquables des *Ophryocystis*, comme l'existence de nombreux prolongements fixateurs et la forme en apparence irrégulière du corps qui donnent à celui-ci tout à fait l'aspect d'un amibe, l'empêchèrent de reconnaître la véritable nature de ces organismes. Bien qu'il ne put réussir à observer chez ces êtres de véritables mouvements amiboïdes, il considéra que leur forme amœbienne devait les éloigner suffisamment des Grégarines et des Coccidies et il songea tout d'abord à les rapprocher des Myxosporidies; mais le caractère grégarinien de

[1]) Depuis la rédaction de ces lignes, de récentes expériences de Léger et Duboscq (1906a, 1906b) ont montré que les *Klossia* des Céphalopodes et les *Aggregata* des Crustacés représentaient deux stades différents d'un même Sporozoaire digénétique, Sporozoaire qui, d'après les recherches de Th. Moroff (1906) doit rentrer également dans le groupe des Schizogrégarines.

leurs spores ne permettait pas de les placer dans ce dernier groupe tandisqu'il les rapprochait au contraire des premiers. Aussi bien, A. Schneider jugea-t-il plus prudent de créer, pour eux, un nouveau groupe, participant à la fois des premiers par la forme des spores et du second par celle des stades végétatifs, groupe auquel il donna, en raison de ces particularités le nom d'Amœbosporidies. C'est sous cette appellation que l'on trouve encore aujourd'hui les *Ophryocystis* décrits dans un certain nombre de traités.

Quinze années plus tard, j'eus l'occasion de rencontrer, dans les *Blaps magica* (Erichs.) de Bône, un nouvel *Ophryocystis* dont j'étudiai la morphologie avec mon regretté collaborateur Hagenmüller (1900). Nous pûmes alors nous assurer que les *Ophryocystis* ne sont pas des êtres amiboïdes, mais présentent au contraire une forme et une orientation bien définies comme les autres Grégarines dont elles se distinguent seulement par leur très petite taille et leur pouvoir de multiplication schizogonique. La présence de nombreux filaments fixateurs n'est pas en effet un caractère spécial à ces parasites car j'ai montré (1899) que chez les *Pterocephalus* qui sont des Eugrégarines il existe un appareil fixateur tout à fait comparable à celui des *Ophryocystis*.

La découverte de 3 nouvelles espèces *d'Ophryocystis, O. hagenmülleri, O. caulleryi, O. mesnili* (1900), que je fis par la suite, vint confirmer notre interprétation morphologique de ces organismes et en même temps me donna l'occasion d'étudier d'une façon plus approfondie, les phénomènes sexués entrevus par Schneider.

Depuis ces recherches, j'ai rencontré, dans divers Coléoptères, plusieurs autres espèces *d'Ophryocystis* que je vais décrire dans ce travail et dont l'étude m'a permis de suivre avec plus de précision que je n'avais pu le faire jusque là, l'évolution de ces êtres. Le présent travail qui est en même temps une monographie du genre *Ophryocystis* résume l'ensemble de mes recherches sur ce sujet.

Méthodes de recherche.

Les parasites ont été étudiés soit sur des coupes soit sur des frottis obtenus par de fines dilacérations des tubes infestés. La méthode des frottis est particulièrement recommandable pour l'étude du processus sexué mais il importe de veiller à ce que la fixation et la coloration soient parfaites; si non, il est impossibled'étudier convenablement les phénomènes nucléaires car les noyaux ont une grande tendance à s'empâter et donnent alors des images grossières ne laissant soupçonner aucun détail.

En ce qui concerne la fixation, on plongera de suite les organes infestés dans le liquide fixateur sans les laisser séjourner même un instant dans le liquide physiologique qui altère rapidement les parasites.

Pour les coupes j'ai employé la fixation au Flemming avec coloration à la Safranine ou au Magenta-Lichtgrün-picrique, et la fixation au sublimé acétique avec coloration à l'Hématoxyline-orange. Par ce dernier procédé les schizontes et les gamontes prennent une belle couleur jaune qui les fait ressortir vivement sur le fond gris bleu des tissus de l'hôte (fig. 43).

Les frottis ont été fixés au sublimé-alcool de Schaudinn et colorés soit à l'Hématoxyline de Boehmer soit à l'Hématoxyline ferrique suivie d'une coloration cytoplasmique à l'éosine ou à l'orange aqueux.

Habitat et Siège.

A la suite des recherches de Schneider (1884) et des miennes (1900), j'ai cru longtemps que les *Ophryocystis* se rencontraient uniquement chez les Coléoptères ténébrionides. En effet A. Schneider avait découvert les siens chez les *Blaps* et les *Akis* et ceux que j'ai rencontrés par la suite vivaient chez une autre espèce de *Blaps*, chez les *Scaurus*, chez les *Tenebrio* et chez les *Olocrates*, tous Coléoptères de la famille des Ténébrionides.[1]) Mais depuis ces recherches, ayant eu l'occasion d'examiner un grand nombre d'insectes et principalement de Coléoptères à ce point de vue, j'ai pu me convaincre que les Ténébrionides n'étaient pas les hôtes exclusifs de ces parasites car j'en ai rencontré aussi chez les *Omophlus* qui sont des Cistélides et chez les *Otiorhynchus* qui sont des Curculionides. La répartition des *Ophryocystis* est donc en réalité beaucoup plus vaste qu'on pouvait pu le croire tout d'abord. Néanmoins, il importe de souligner que, jusqu'à présent, ils paraissent localisés à l'ordre des Coléoptères et, en somme, limités seulement à quelques groupes: Ténébrionides, Cistélides, et Curculionides. Il est à penser d'ailleurs que de nouvelles recherches augmenteront encore cette aire de répartition car je suis loin d'avoir examiné tous les groupes de Coléoptères à ce point de vue.

Dans tous ces hôtes, les *Ophryocystis* paraissent constamment et à peu près exclusivement localisés dans les tubes de Malpighi. Je dis à peu près exclusivement, car j'ai observé une fois, un *Blaps magica* qui en montrait également dans l'intestin moyen; mais cet

[1]) Dans cette même famille j'ai examiné mais toujours sans succès, un certain nombre de *Pimelia*, *Asida*, *Opatrum* et *Helops* qui hébergent pourtant si fréquemment de nombreuses Grégarines Stylorhynchides.

hôte avait en même temps les tubes malpighiens tellement bondés et distendus par les parasites qu'il est fort possible que ceux-ci aient été refoulés mécaniquement dans l'intestin où ils ont continué leur développement. C'est assurément là un cas exceptionnel, car chez tous les autres Coléoptères infestés que j'ai rencontrés, je n'ai pas retrouvé d'*Ophryocystis* dans l'intestin. On peut donc dire que les *Ophryocystis* sont, avant tout, des parasites des tubes de Malpighi.

Dans ces tubes, ils forment d'abord par places, des colonies de plus en plus nombreuses dérivant d'un ou de plusieurs schizontes primitifs, et dont le développement progressif amène la distension du canal. Celui-ci présente alors un aspect moniliforme et une couleur blanc laiteux très caractéristique, facilement reconnaissable même à la loupe, ainsi que l'avait déjà observé SCHNEIDER chez les *Blaps* (1884). Le tube est ainsi progressivement envahi sur presque toute sa longueur et les colonies devenant confluentes, finissent par remplir tout l'organe. Mais c'est surtout dans sa région proximale, c. à d. vers son point d'abouchement que les parasites s'accumulent, sans doute chassés par les mouvements de contraction du tube. Ils forment là des amas renfermant un nombre énorme de stades libres, gamontes et kystes, qui distendent l'organe en l'obstruant et s'écoulent au dehors à la moindre perforation.

On conçoit ainsi que les kystes avec leur unique sporocyste qui mûrit toujours dans l'intérieur du tube malpighien, gagnent ensuite facilement l'intestin postérieur d'où ils sont expulsés à l'extérieur avec les excréments, prêts à infester à nouveau l'hôte approprié qui les absorbera.

C'est ainsi que, dans une même station infestée, tous les *Blaps* sont généralement très fortement atteints. Par contre, les stations à *Blaps* infestés sont très rares. C'est que les *Blaps* sont des animaux très sédentaires et comme ils sont privés d'ailes, ils ne peuvent disséminer au loin leurs parasites. Il en est de même pour quelques autres Ténébrionides: *Akis, Scaurus*, hôtes de prédilection des *Ophryocystis*, et c'est sans doute là la raison pour laquelle ces parasites se rencontrent si rarement.

Action du Parasite sur l'hôte.

Les *Ophryocystis*, malgré leur nombre souvent considérable, ne paraissent pas causer une action bien fâcheuse sur l'organe qu'ils envahissent non plus que sur l'organisme infesté en général.

N'ayant à aucun moment de stade intracellulaire, ils ne peuvent en effet produire d'altération mécanique appréciable dans les

cellules. Et bien que, d'autre part, leurs nombreuses radicelles fixatrices jouent vraisemblablement le rôle d'organes absorbants, ils doivent se nourrir surtout par osmose aux dépens du liquide qui les baigne, de sorte que leur action sur les énormes cellules qui constituent l'épithélium malpighien n'est que peu ou point discernable. Elle parait du reste variable selon les espèces. Ainsi tandisque chez les *Scaurus* infestés par *O. caulleryi*, l'épithélium malpighien très épais ne montre aucune altération sensible (fig. 43), chez les *Omophlus* les cellules paraissent tuméfiées, leur cytoplasme hypertrophié faisant saillie dans la lumière, en même temps que le noyau présente des phénomènes d'hyperchromatose; et enfin chez les *Olocrates*, le cytoplasme des cellules épithéliales des tubes fortement infestés, est, au contraire, si réduit en certains points, que les parasites paraissent reposer sur la basale.

Un fait qui parait assez constant dans les épithéliums infestés, est l'apparition de nombreux grains de pigment dans le cytoplasme des cellules malpighiennes au point où les parasites sont fixés en grand nombre (fig. 24, 26 et 53), mais je ne saurais dire si c'est là le résultat de l'action directe du parasite, ou d'une particularité dans le fonctionnement physiologique normal de la cellule.

Au résumé, l'action du parasite sur les cellules de l'hôte est faible; tantôt elle se traduit par une hypertrophie du cytoplasme (*Omophlus*), tantôt par une atrophie (*Olocrates*) qui est peut-être consécutive à la première. Souvent en outre, le cytoplasme se charge de grains de pigment au niveau des zônes parasitées.

Au point de vue purement mécanique, par contre, il est permis de se demander si le parasite n'apporte pas quelque trouble dans le fonctionnement des organes excréteurs qu'il a envahis. On sait que ces organes éliminent normalement leur contenu par le moyen de contractions péristaltiques dues à des fibres musculaires mises pour la première en évidence par Léger et Duboscq chez les Gryllides (1899) et qu'on retrouve facilement chez les Coléoptères *m* (fig. 43). Or, lorsque les colonies *d'Ophryocystis* sont très nombreuses, elles provoquent de véritables obstructions du canal excréteur à leur niveau. En amont d'elles s'accumulent les produits excrétés par le tube et qui devraient normalement être chassés vers le rectum. Le tube se distend alors énormément par places et l'organe tout entier devient boursouflé et d'un blanc laiteux. Les excreta solubles doivent sans doute se répandre à nouveau dans le sang et il est fort probable qu'il en résulte quelques troubles pathologiques peut-être graves, bien qu'il ne soit guère possible de les reconnaitre.

Schéma de l'évolution d'un Ophryocystis.

Afin de faciliter la compréhension des chapitres suivants, j'exposerai tout d'abord les grandes lignes de l'évolution des *Ophryocystis* laquelle s'effectue d'une façon à peu près identique chez toutes les espèces. On la suivra facilement avec le schéma ci-joint.

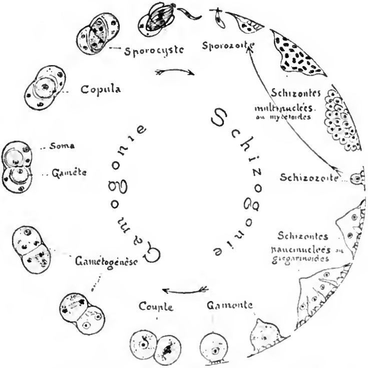


Fig. A texte. Schéma de l'évolution des Ophryocystis (type O. hessei).

Les sporocystes des *Ophryocystis*, de forme fondamentale biconique, renferment 8 sporozoïtes à leur maturité. Ils mûrissent dans la lumière des tubes de Malpighi puis gagnent l'intestin postérieur d'où ils sont expulsés au dehors avec les excréments.

Autant que je puis le supposer, en me basant sur le fait que chez *O. schneideri* le suc intestinal de l'hôte détermine la déhiscence du sporocyste, l'infection est directe. Les sporocystes mûrs, avalés par l'hôte approprié, s'ouvrent dans l'intestin, livrant passage aux

8 sporozoïtes qui gagnent les points d'abouchement des tubes de Malpighi et se fixent à l'épithélium de ces tubes entre les cils de la bordure en brosse.

Là, le sporozoïte grossit, devient piriforme et se couche sur la surface épithéliale en même temps qu'il émet des prolongements fixateurs ou radicelles du côté tourné vers l'épithélium. Le parasite prend alors une forme conique plus ou moins régulière et continue à grandir en même temps que son noyau primitif se multiplie activement.

Il se forme ainsi un schizonte multinucléé à noyaux nombreux (schizonte mycétoïde) qui se dissocie en autant d'individus ou schizozoïtes qu'il possède de noyaux. Ces schizozoïtes se multiplient soit de la même façon que l'individu mère, soit par division binaire selon les espèces, et le tube de Malpighi est ainsi envahi par de nombreuses colonies parasitaires.

Vers la fin de cette période active de multiplication végétative, les noyaux des schizozoïtes ne se multiplient plus avec autant d'activité et les schizontes grossissent en montrant seulement, 2 ou 4 noyaux au maximum. Ce sont les schizontes grégarinoïdes ou paucinucléés qui se multiplient comme les premiers et qui par une dernière division vont enfin donner les gamontes ou individus sexués.

Les gamontes ont un noyau unique. Ils grossissent sans se diviser et, au terme de leur croissance ils prennent une forme globuleuse et se détachent de l'épithélium.

La reproduction sexuée débute par l'accouplement des gamontes qui s'accolent deux à deux et s'entourent d'une frêle paroi kystique commune.

Dans chaque gamonte accouplé le noyau se divise d'abord une fois. L'un des deux noyaux-filles, représentant le noyau somatique, gagne la périphérie et dégénère par la suite, tandisque l'autre va subir une division réductrice donnant deux noyaux dont l'un reste inutilisé et dégénère. Le noyau restant ou noyau sexuel condense alors autour de lui une certaine quantité de cytoplasme pur sexuel et ainsi se forme un gamète dans chaque individu du couple.

Puis la cloison d'accolement qui sépare les deux gamètes se résorbe et ceux-ci se fusionnent pour donner une copula d'abord sphérique et devenant rapidement ovoïde biconique en même temps qu'elle se revêt d'une paroi résistante. La copula est devenue un sporocyste à l'intérieur duquel se forment, après trois divisions successives du noyau de copulation, 8 sporozoïtes allongés disposés suivant des méridiens.

Le sporocyste unique formé aux dépens des 2 gamontes est alors mûr. Les restes inutilisés ou soma des gamontes qui le protégeaient pendant son développement se flétrissent et disparaisseut. Finalement, sporocystes et débris d'enveloppe sont entraînés avec les produits d'excrétion vers l'intestin d'où ils gagnent l'extérieur. Nons sommes ainsi revenus au point de départ.

Sporocystes et sporozoïtes.

Les sporocystes représentant la forme de résistance des *Ophryocystis* dans le milieu extérieur et par conséquent le point de départ de l'infection, je commencerai mon étude morphologique par leur description.

On sait qu'il ne se forme normalement dans chaque kyste qu'un seul sporocyste résultant de la copulation de deux gamètes. Lorsque celui-ci gagne le milieu extérieur, il est presque toujours débarassé de son enveloppe kystique. Celle-ci, très frêle, est le plus souvent disloquée et même liquéfiée de bonne heure dans la lumière même des tubes malpighiens, comme chez *O. mesnili* et *O. caulleryi*, par exemple. Dans certaines espèces toutefois, la paroi kystique constitue pour le sporocyste une enveloppe protectrice qui s'ouvre suivant un mode particulier étudié plus loin (*O. hagenmülleri*, fig. 10), ou bien encore donne naissance successivement à une série d'enveloppes concentriques, comme A. Schneider l'a observé chez *O. bütschlii* (fig. E texte); parfois enfin ce sont les débris flétris des gamontes qui forment à chaque pôle du sporocyste un épais capuchon protecteur assez longtemps persistant (*O. duboscqi*, fig. 12).

Mais, de toute façon, on peut dire que là, comme chez les Grégarines, c'est la paroi propre du sporocyste qui constitue essentiellement l'appareil protecteur du germe, la paroi kystique ayant avant tout pour but de protéger l'acte sexuel et l'évolution de la copula.

La forme fondamentale des sporocystes d'*Ophryocystis* est biconique ou, plus exactement, ovoïde, acuminée aux pôles. Leur projection équatoriale est un cercle (fig. 37 *b*) et les deux pôles sont semblables. Les sporocystes des *Ophryocystis* sont donc morphologiquement identiques à ceux des Eugrégarines de la famille des Actinocéphalides.

Selon la prédominance d'un axe sur l'autre, le sporocyste est ventru (*O. perezi*, *O. hagenmülleri*, fig. 8), ou ovoïde allongé (*O. schneideri*, fig. 37 *a*), ou même fusiforme (*O. duboscqi*, fig. 12 et 36).

La taille moyenne de ces sporocystes, variable suivant les espèces, est, en moyenne, de 10 à 12 μ c'est dire que les sporocystes des

Ophryocystis sont à peu près de même grandeur que ceux des Eugrégarines et notamment des Actinocéphalides.

Ils possèdent une paroi épaisse et très résistante, ordinairement épaissie aux pôles en forme de bouton réfringent (*O. hagenmülleri*, *O. duboscqi*, *O. hessei*). Chez toutes les espèces, cette paroi parait constituée par une double enveloppe: la plus externe ou épispore est très mince et étroitement appliquée sur l'endospore. Mais, dans la plupart des cas, on ne peut distinguer nettement ces deux enveloppes l'une de l'autre, et ce n'est que chez certaines espèces qu'on peut s'assurer de cette disposition. Ainsi le sporocyste de *O. schneideri* montre à chaque extrémité une calotte épaisse et colorable qui semble bien être une zône épaissie d'une épispore très frêle sur tout le reste de la surface (fig. 37*a*). Au moment de la déhiscence, ces deux calottes se détachent, mettant à nu les deux pôles du sporocyste au niveau desquels la paroi très amincie se perce d'un orifice circulaire pour livrer passage aux sporozoites (fig. 11).

C'est là le seul mode de déhiscence que j'ai observé chez les sporocystes des *Ophryocystis*. En égard à la forme fondamentale de la spore, il est à penser que, chez les autres espéces, la déhiscence est également du type bipolaire, comme du reste chez les espèces d'Eugrégarines à spores biconiques (Actinocéphalides) où elle a été observée.

Le sporocyste mûr des *Ophryocystis* renferme comme celui des Eugrégarines typiques 8 sporozoïtes disposés assez régulièrement suivant des méridiens (*O. mesnili*, fig. 75), ou légèrement tordus en spires entrecroisées (*O. schneideri*, fig. 37*a*), tandisqu'au centre du sporocyste se voient fréquemment quelques granulations claires résiduelles parfois réduites á un seul grain brillant (*O. hessei*).

Je n'ai pu étudier les sporozoïtes que sur des coupes ou des frottis et à l'intérieur du sporocyste, ce qui ne m'a pas permis de préciser leurs caractères morphologiques. Tout ce que je puis dire c'est qu'ils ont la forme d'un fuseau allongé, et semblent plus effilés à une extrémité qu'à l'autre. Leur taille varie naturellement avec les espèces, c'est chez *O. caulleryi* (fig. 44), qu'ils sont les plus gros. Chez *O. duboscqi* (fig. 36), ils sont par contre très petits et très difficiles à mettre en évidence.

Ces sporozoïtes sont formés d'un plasma clair homogène, assez fortement colorable et montrent vers le milieu, un noyau ovale allongé, presque aussi large que le corps (fig. 44). Chez *O. schneideri*, certaines colorations heureuses montrent ce noyau formé de grains de chromatine très densément disposés, avec un karyosome plus

fortement teinté et situé à une extrémité (fig. 37 *a*). Dans leur structure générale, les sporocystes et les sporozoïtes des *Ophryocystis* ne diffèrent donc en rien de ceux des Eugrégarines.

Les schizontes et leur développement.

Le sporozoïte mis en liberté dans l'intestin de l'hôte après la déhiscence du sporocyste, doit gagner de suite les tubes de Malpighi où il se fixe sur la surface épithéliale entre les cils rigides qui la recouvrent. Puis il grossit en même temps qu'il s'incline et se couche sur la bordure ciliaire. C'est alors qu'en divers points de sa surface en contact avec les cils, naissent des radicelles fixatrices dont le nombre augmente avec la taille du parasite. Celui-ci acquiert ainsi une large base de fixation reliée à la surface épithéliale par les radicelles qui en émanent (fig. 53). Pendant ces premiers phénomènes de développement le parasite a multiplé ses noyaux et arrive bientôt au stade de schizonte.

Il faut distinguer selon les espèces ou les stades considérés, deux sortes de schizontes:

Les schizontes mycétoïdes ou multinucléés, de forme souvent irrégulière et à noyaux nombreux densément disposés (type: *O. hessei*, fig. 13), et les schizontes grégarinoïdes de forme et d'orientation bien définies possédant seulement un petit nombre de noyaux (ordinairement 2 ou 4, rarement 6) grands et largement espacés (types: *O. hessei*, fig. 15, et *O. caulleryi*, fig. 47).

Tandisque j'ai observé les schizontes grégarinoïdes ou paucinucléés chez toutes les espèces *d'Ophryocystis*, je n'ai rencontré par contre les formes mycétoïdes que chez 3 espèces: *l'O. hessei* (fig. 13 à 18); *l'O. hagenmülleri* (fig. 19 à 28) et *l'O. duboscqi* (fig. 29); auxquelles il faut sans doute ajouter *l'O. bütschlii* et *l'O. francisci* dont certains stades végétatifs possèdent, d'après Schneider, jusqu'à 10 noyaux et même davantage.

Dans les espèces à schizontes mycétoïdes que j'ai étudiées, ce stade marque toujours le début de l'évolution du parasite, représentant la phase aigüe de l'infection pendant laquelle celui-ci se multiplie intensément. Puis cette phase fait place à une ou plusieurs générations de schizontes grégarinoïdes paucinucléés desquels dériveront finalement les gamontes. Les espèces à schizontes mycétoïdes comportent donc aussi et forcément une phase à schizontes grégarinoïdes.

Au contraire, certaines espèces, comme *O. caulleryi* (fig. 43 à 47), *O. mesnili* (fig. 53), *O. schneideri* (fig. 39, 40 et 42), ne m'ont jamais montré que des schizontes paucinucléés ayant au plus 4 noyaux (très

rarement 6, par exception). Je ne pense pas que, dans ces espèces, les stades multinucléés m'aient échappé, car j'ai examiné un très grand nombre d'individus ce qui est relativement facile étant donnée l'énorme quantité de parasites que l'on peut observer dans un espace restreint. J'en conclus que chez elles, la multiplication endogène s'effectue exclusivement à l'aide de schizontes grégarinoïdes à 2 ou 4 noyaux et, en conséquence, atteint probablement un degré d'intensité moindre que dans les cas précédents. De plus, il est à remarquer que chez les espèces à multiplication intensive par schizontes mycétoïdes multinucléés, les stades végétatifs terminaux ou gamontes sont notablement de taille plus petite que chez celles qui présentent exclusivement des schizontes grégarinoïdes pancinucléés; comme si, à l'instar de ce que l'on trouve chez certains Plathelminthes, il y avait une sorte de balancement entre l'intensité de la multiplication agame et la taille du parasite. Il suffit pour s'en convaincre de comparer les stades, *d'O. caulleryi*, (fig. 46), ou *d'O. schneideri* (fig. 42) (espèces à schizontes paucinucléés) avec ceux *d'O. hagenmülleri* (fig. 20) ou *d'O. duboscqi* (fig. 31) (espèces à schizontes multinucléés) qui sont représentés à un même grossissement.

Schizontes mycétoïdes ou multinucléés. — Tandisque les schizontes grégarinoïdes ont toujours une forme bien définie en cône plus ou moins surbaissé, et une orientation constante, les schizontes mycétoïdes ont une forme beaucoup plus irrégulière dans laquelle il est souvent impossible de définir l'orientation.

Au début, la forme fondamentale conique est encore aisément reconnaissable (fig. 22 et 24*d*), mais avec la croissance et la multiplication des noyaux, ils deviennent massifs (fig. 29*a*), globuleux (fig. 29*c*), amœbiformes (fig. 27), irrégulièrement mamelonnés (fig. 13), fongoïdes et souvent même rameux (fig. 24*a* et 30). Sous ces formes mycétoïdiennes qui rappellent en certains cas plutôt un Mycétozoaire qu'une Grégarine, les schizontes multinucléés peuvent atteindre une taille relativement grande. Ainsi, chez *O. hessei* (fig. 13), ils deviennent près de dix fois plus gros que les gamontes et j'ai pu y compter jusqu'à 80 noyaux. A l'état jeune, par contre (fig. 22), ils n'ont que quelques μ de hauteur malgré un nombre déjà considérable de noyaux et il serait assurément impossible de reconnaître leur véritable nature si l'on ne trouvait côte à côte tous les stades de transition entre ces microformes mycétoïdiennes et les *Ophryocystis* adultes.

Chez *O. hagenmülleri*, ces schizontes sont fixés à l'épithélium par de nombreuses radicelles, comme les formes grégarinoïdes; chez

O. duboscqi (fig. 29 *a* et *c*), ils semblent plus étroitement accolés à l'épithélium par une sorte de ventouse située vers le milieu de leur face basale, tandisque chez *O. hessei* (fig. 13), ils paraissent simplement appliqnés sur la snrface des cellules épithéliales. Comme les schizontes grégarinoïdes, ils m'ont toujours paru immobiles.

Les schizontes multinucléés se multiplient de deux manières: par plasmotomie et par schizogonie.

La plasmotomie s'observe plus spécialement chez les schizontes rameux, par exemple chez *O. hagenmülleri* (fig. 24 *a*). Le schizonte, sans doute massif au début, commence à se lober par des incisures qui partent de sa face basale d'insertion et gagnent peu à peu la face opposée, le déconpant progressivement en lobes multinucléés qui, finalement, se séparent tout en restant fixés par leurs radicelles à l'épithélium (fig. 24 et 30). Dans la suite, les produits de cette division peuvent continuer à se diviser par étirement pour donner des produits uninucléés (fig. 24 *b*), ce qui condnit à la schizogonie typique dont je vais maintenant parler.

Dans la schizogonie qui s'observe également chez les schizontes paucinucléés, le corps se découpe en autant d'individus qu'il y a de noyaux comme chez les Coccidies et chez *Schizocystis*.

Les schizontes multinucléés qui vont subir la schizogonie sont généralement de forme très surbaissée et massifs. Les noyaux gagnent la couche superficielle, et, autour de chacun d'eux, le protoplasma se soulève en légères éminences secondaires qui se découpent et s'isolent progressivement de la masse commune (*O. hagenmülleri*, fig. 19 *a*); ainsi se forment de nombreux petits schizontes filles uninucléés qui restent ordinairement reliés à l'épithélium par quelques radicelles augmentant rapidement de nombre. Puis ceux-ci grandissent (fig. 19 *b*), et deviennent soit de nouveaux schizontes multinucléés (fig. 24 *d*), soit des schizontes paucinucléés préparant la génération des gamontes (fig. 23, 25 et 24 *e*).

Dans certains cas les schizontes multinucléés quittent l'épithélium en prenant une forme massive, ovoïde, avant de subir la division (fig. 27). Ce phénomène favorise la dissémination du parasite le long du tube à ce stade de multiplication active, les schizontes libérés étant alors charriés par les mouvements de contraction de l'organe excréteur.

Cytologie. — In vivo, les schizontes mycétoïdes diffèrent notablement des schizontes grégarinoïdes non-seulement par leur forme mais par leur aspect. Ils constituent des masses hyalines ou légèrement réfringentes à contours moins accentués et à contenu beaucoup moins

grossièrement granuleux que celui des schizontes paucinucléés. Les noyaux ne sont que peu ou point visibles à leur intérieur.

Sur des préparations colorées, ils montrent une frêle cuticule à peine différenciée et leur cytoplasma est toujours assez fortement colorable par les colorants de la chromatine. C'est là un caractère très remarquable et constant des premiers stades végétatifs de toutes les Schizogrégarines que j'ai étudiées. De plus, ils ne montrent pas cette affinité spéciale pour l'orange qui caractérise si bien les gamontes, de sorte que sur des préparations à l'hématoxyline orange leur cytoplasma reste coloré en gris violet (fig. 13, 19, 29), tandisque celui des schizontes grégarinoïdes et des gamontes, montre une belle couleur orange. Leur cytoplasme est très finement granuleux, à structure alvéolaire peu accusée, et dépourvu ordinairement de corpuscules chromatiques extra-nucléaires (chromidies).

Les schizontes mycétoïdes renferment de nombreux noyaux dont la taille et la structure, surtout dans les formes de début d'évolution, sont notablement différentes de celles des noyaux des schizontes multinucléés. Ces noyaux sont en effet de petite taille, à paroi si peu visible que, dans certains cas il est permis de se demander, si elle existe réellement. Le plus souvent leur forme n'est pas sphérique mais ovoïde et un gros nucléole chromatique ou karyosome[1]) occupe une extrémité tandisque le réseau de chromatine en forme de calotte se trouve à l'extrémité opposée [*O. hessei* (fig. 13), *O. hagenmülleri* (fig. 24 *d*)]. C'est là un type de noyau que j'ai observé chez des êtres bien différents des Grégarines, notamment chez des Protistes parasites dont les affinités sont manifestement avec les Myxomycètes, comme le *Mycetosporidium talpa* (Léger et Hesse), de l'intestin des Otiorhynques où Léger et Hesse (1905) l'ont désigné sous le nom de noyau fongiforme. A la limite du noyau, sur la paroi à peine visible, se voit un petit grain faiblement colorable, représentant sans doute le centrosome. Dans d'autres stades mycétoïdes, la chromatine des

[1]) Pour éviter toute confusion je désigne ici ce nucléole chromatique sous le nom de karyosome comme c'est l'usage aujourd'hui pour la même formation chez les Eugrégarines. A la vérité, c'est plutôt un nucléolo-karyosome et le terme de karyosome s'appliquerait peut-être plus exactement (ainsi que je l'ai fait dans mon mémoire sur „la Reproduction sexuée chez les Stylorhynchus" in Arch. Protistenk. 1904) à un important et assez constant grain de chromatine qu'on observe également dans le noyau des *Ophryocystis* (fig. 48, 49, 53 *f*) et dont j'aurai à reparler par la suite (v. p. 180). Au reste, je ne puis insister davantage, sans sortir des limites que je me suis tracées pour ce travail, sur ces points de terminologie cytologique concernant des éléments dont la nature et la fonction sont encore insuffisament précisées.

noyaux se condense presqu'en totalité sur le karyosome central de sorte que le noyau parait formé par un unique gros karyosome baignant dans un suc nucléaire clair (fig. 29 et 30).

Enfin, chez certains schizontes multinucléés les noyaux présentent un aspect qui rappelle davantage celui des noyaux typiques des formes grégarinoïdes et des gamontes. Il est à présumer que ce sont les schizontes de transition qui marquent le passage des stades mycétoïdes aux formes grégarinoïdes paucinucléées et gamontogènes. Là, les noyaux sont plus grands et plus espacés, leur contour devient circulaire, le suc cellulaire est plus abondant et la chromatine présente une tendance manifeste à se répartir plus régulièrement dans le suc nucléaire autour du karyosome (fig. 19 *a* et 27).

Division des noyaux. — Dans tous ces schizontes multinucléés la multiplication des noyaux est rapide et souvent synchrone. Leur petite taille empêche de suivre en détail le processus de division nucléaire, mais on peut affirmer qu'il s'agit d'une mitose simplifiée sans figure achromatique distincte. Le karyosome abandonne d'abord une grande partie de sa chromatine périphérique au suc nucléaire qui devient fortement colorable; en même temps le noyau prend une forme étirée et les grains de chromatine du réseau se répartissent en deux amas qui gagnent les pôles. Puis le noyau étiré s'étrangle en biscuit et il se forme deux noyaux-filles qui s'écartent peu à peu l'un de l'autre. Chacun de ces noyaux montre alors sa chromatine localisée en une calotte conservant ainsi la position et la forme prise au début de la mitose, et un karyosome à l'extrémité opposée (noyau fongiforme). Je ne saurais dire si le nouveau karyosome dérive de celui du noyau maternel; il m'a semblé qu'il en était ainsi dans certaines mitoses tandisque dans d'autres il paraît disparaître après avoir abandonné sa chromatine au noyau, au début du processus. Il est aussi difficile de suivre le rôle du centrosome à cause de la petitesse des images mais il est rationnel d'admettre qu'il s'est comporté ici suivant la règle générale et que sa division a précédé celle de l'appareil chromatique.

Dans les schizontes à gros noyaux, le processus de division du noyau, plus facile à suivre, se rapproche du reste davantage des mitoses typiques et ne diffère pas sensiblement de celui que je décrirai plus loin chez les schizontes paucinucléés.

Schizontes grégarinoïdes. — Les schizontes grégarinoïdes ou paucinucléés, les seuls connus jusqu'à aujourd'hui, sont ceux qui s'observent le plus souvent chez les *Ophryocystis.* Ils existent en effet chez toutes les espèces tandisque les précédents ou schizontes

mycétoïdes ne semblent se rencontrer que chez certaines (voir plus haut). En tout cas ce sont eux qui terminent la multiplication schizogonique de l'hôte et par conséquent donnent naissance aux gamontes.

Les schizontes grégarinoïdes présentent toujours une forme et une orientation bien définies.

Leur forme fondamentale est un cône plus ou moins surbaissé à base fixée à l'épithélium par de nombreuses radicelles et à sommet tourné vers la lumière du tube. Le sommet est donc l'extrémité distale du parasite et la base de fixation l'extrémité proximale.

Par la définition constante de leur forme et de leur orientation, les schizontes paucinucléés représentent la vraie forme grégarinienne de *l'Ophryocystis*, et à ce point de vue il est intéressant de faire remarquer l'analogie étonnante de ce stade des *Ophryocystis* avec celui des jeunes stades de *Pterocephalus* (Comparer à cet effet la fig. B texte avec la fig. 42 Pl. VII).

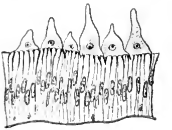


Fig. B texte.
Jeunes *Pterocephalus* fixés à l'épithélium intestinal de la *Scolopendre* (d'après Léger et Duboscq).

Pour bien se rendre compte de la morphologie des *Ophryocystis*, il importe essentiellement d'étudier ces organismes sur des coupes perpendiculaires à la surface épithéliale sur laquelle ils sont fixés (fig. 43). Lorsqu'on les examine de face en effet ou par leur pôle distal leur aspect est complètement différent. Ils se montrent alors comme de véritables amibes (fig. 1 et fig. 52), et si ce n'était leur immobilité complète, on aurait peine à se défendre de les considérer comme tels surtout si on ne les étudiait que sur le vivant par compression du tube ou seulement sur des frottis, ainsi que l'a fait Schneider qui les regarda comme des êtres amiboïdes et, en conséquence, ne put reconnaître leur véritable nature.

Non-seulement les schizontes grégarinoïdes sont bien définis par leur forme et leur orientation générales, mais encore on peut dire que chaque espèce *d'Ophryocystis* est caractérisée par la forme et la taille de ceux-ci lorsqu'ils sont arrivés au terme de leur croissance.

C'est ainsi que chez *O. schneideri* les schizontes grégarinoïdes à 4 noyaux sont en cône surbaissé avec une pointe distale légèrement mucronée (fig. 40), tandisque ceux qui sont mononucléés et par conséquent destinés à devenir des gamontes ont une forme

extrêmement allongée atteignant 35 μ de longueur (fig. 42). De tels gamontes donnent alors des couples ovoïdes allongés (fig. 41).

Chez *O. caulleryi*, par contre, leur forme est beancoup plus ramassée, en cloche on en casqne, en même temps que lenr extrémité distale se prolonge le plus souvent en nne sorte de quene on de pointe monsse (fig. 45, 46 et 47). La taille de ces schizontes est considérable, 15 à 20 μ et ils comptent parmi les formes les plus grosses *d'Ophryocystis*. Il est intéressant de remarqner combien ces schizontes ressemblent à ceux des curieux sporozoaires récemment décrits par BRASIL (1906) dans l'intestin d'une Polychète, le *Scoloplos armiger* et nommés par cet auteur *Eleutheroschizon duboscqi*. Ainsi qne je l'ai fait remarquer au début de ce travail, il est fort possible qne ces parasites soient très proches parents des *Ophryocystis*, et pour ma part je crois, en l'absence de plus amples détails, que c'est là leur véritable affinité plntôt qn'avec le *Schizocystis* comme le pense BRASIL, qui les regarde d'ailleurs, avec les meilleures raisons, comme des Schizogrégarines.

Chez *O. mesnili* la forme des Schizontes grégarinoïdes est déjà beaucoup plus surbaissée, mais toujours légèrement acuminée au pôle distal (fig. 53*f*, *g* et fig. 54); de même chez *O. hagenmülleri*, fig. 26.

C'est aussi à peu près la même forme qni se retrouve chez *O. duboscqi*, avec une taille beaucoup plus petite et une localisation particulière des radicelles à l'extrémité des prolongements qui servent de support commun à un certain nombre d'entre elles, ce qui donne à ces schizontes un aspect très particulier (fig. 32).

Enfin chez *O. hessei* ils prennent de bonne heure nne forme en dôme, sans trace de mucron distal (fig. 14, 15 et 16).

Quelle que soit leur forme particnlière, les Schizontes grégarinoïdes paucinnclées sont toujours fixés de la même manière à l'épithélium malpighien, au moyen de radicelles qui traversent la bordure constituée par les cils rigides parfois très longs (snrtout chez les *Blaps* et les *Scaurus*, fig. 40 et 45), pour s'implanter dans le cytoplasme des cellules épithéliales. Mais la portion libre de ces radicelles fixatrices, c'est-à-dire la partie non enfoncée dans la cellule, est plns ou moins longue suivant les espèces.

Ainsi chez *O. schneideri* et *O. caulleryi* les radicelles sont très longues, de sorte que le corps du parasite se trouve à nne certaine distance de la surface épithéliale (fig. 1, 2, 42, 43, 45, 46); chez *O. mesnili* elles sont déjà plus courtes (fig. 53, 54, 55); et enfin très courtes chez *O. hagenmülleri* et presque nnlles chez *O. hessei* (fig. 14, 15, 16) où les schizontes paraissent reposer directement sur l'épithélium.

Il semble du reste que ces variations soient tout à fait en rapport avec la hauteur des cils de la bordure en brosse de l'épithélium, comme si ces derniers opposaient un obstacle au parasite et l'empêchaient de reposer plus étroitement sur la surface épithéliale.

Les radicelles sont constituées par des prolongements cytoplasmiques grêles, dépourvus de granulations et revêtus par la frêle cuticule qui protège tout l'organisme.

Tout le corps du schizonte est en effet recouvert par une cuticule bien visible par le vert lumière, très mince, molle, dépressible et dépourvue de côtes ou stries méridiennes comme on en observe chez toutes les Eugrégarines. Il n'existe pas de couche ectoplasmique distincte sous la cuticule et on n'y voit pas de myonèmes. Il en résulte que l'appareil protecteur des *Ophryocystis* est très faiblement développé, ce qui rend ces organismes facilement altérables et difficiles à fixer dans leur forme exacte.

L'altérabilité de la forme est facile à constater lorsqu'on étudie les parasites in vivo dans le liquide physiologique, qui d'ordinaire permet d'observer vivantes les Grégarines proprement dites pendant plusieurs heures. Les *Ophryocystis* s'altèrent au contraire très rapidement dans ce liquide en devenant vacuolaires et certaines espèces notamment *O. caulleryi*, montrent en divers points de leur surface correspondant sans doute au lieu d'origine des radicelles, des productions singulières débutant par une petite saillie protoplasmique d'abord conique, puis s'allongeant et devenant rapidement filiforme (fig. 6). On dirait un flagelle, d'autant mieux que cet élément se montre parfois animé de mouvements d'oscillation et d'ondulation d'ordre purement physique mais qu'on pourrait croire volontaires. Puis, ces pseudo-flagelles se détachent du corps et persistent dans la préparation (fig. 6), où ils peuvent induire en erreur un observateur non prévenu. En même temps, le reste du corps se gonfle considérablement et prend une forme globuleuse qui le rend méconnaissable.

Les meilleurs fixateurs pour l'étude cytologique et morphologique de ces stades sont le liquide de Flemming ou le sublimé-alcool. A l'aide de ces réactifs, on peut voir que le cytoplasma présente une structure nettement alvéolaire, à mailles régulières.

Chez les très jeunes individus le cytoplasme est clair avec quelques rares granulations; mais, de bonne heure, il renferme de nombreux grains de réserve sphériques, de taille assez grosse, qui donnent au parasite, sur le vivant, un aspect granuleux très caractéristique, la place du noyau étant visible comme une tache claire (fig. 1 à 5). Ces grains de réserve sont comparables à ceux

qui s'observent chez toutes les Grégarines et présentent les mêmes réactions caractéristiqnes, c. à. d. qu'ils prennent une couleur brun acajou par l'iode et bleuissent par addition d'acide sulfurique; on peut donc les regarder avec Bütschli, comme formés de paraglycogène.

Le cytoplasme des *Ophryocystis* renferme aussi assez souvent de la graisse sous forme de grains sphériques de taille variée, notamment chez *O. mesnili* et chez *O. caulleryi*. Enfin il importe de signaler la présence fréquente dans le cytoplasme des schizontes grégarinoïdes et des gamontes, de corpnscules chromatiques de forme et d'importance variables et qu'on peut regarder comme des chromidies. Ces chromidies s'observent d'une façon pour ainsi dire constante et sous forme de grains nombrenx à peu près sphériques mais de taille variée, chez *O. duboscqi*, *O. mesnili* et *O. caulleryi* (fig. 31, 45 et 50). Chez *O. hessei* ils ont une forme allongée (fig. 17) parfois renflée à une extrémité. Chez *O. hagenmülleri* ces chromidies ne sont plus sous forme de grains, mais de corps en boudin on fuseau diversement contonrnés et de taille parfois considérable (fig. 20 et 26).

Toutes ces chromidies prennent naissance aux dépens du noyau ainsi qne cela paraît particulièrement net chez *O. hagenmülleri*, où l'on voit, chez certains individus, le noyau surchargé de chromatine et très gros, et chez d'autres, la substance chromatique éliminée dans le cytoplasme sous forme de cordons qni restent quelque temps en relation avec le noyau (fig. 20 et 26). Dans les espèces où les chromidies sont en forme de grains, on remarque anssi que leur apparition coïncide toujours avec une notable diminution de la colorabilité du noyau (fig. 17).

Du reste, les chromidies n'apparaissent nombreuses qu'à un moment bien défini de l'évolution. C'est dans les derniers termes de la série des schizontes paucinucléés (fig. 23 et 25), et surtout dans les gamontes qni en dérivent directement (fig. 20 et 26), qu'elles deviennent tout à fait caractéristiques. On les retronve ensuite encore plus nombreuses, dans les gamontes adultes et dans les couples, notamment chez *O. caulleryi* (fig. 50) et *O. hessei* (fig. 18). Toutefois, pour une même espèce, leur nombre est variable suivant les exemplaires considérés. Certains en sont encombrés au point qu'il est impossible de suivre les phénomènes nucléaires tandisque d'autres n'en possèdent que très peu.

Si maintenant on cherche à suivre la destinée de ces chromidies au cours du processus sexué, on voit d'abord qu'elles ne prennent aucune part à la constitution des noyaux sexuels et, par conséquent, ne jonent aucnn rôle important dans le phénomène de la reproduction.

La plupart se retrouvent du reste dans le cytoplasme somatique où elles diminuent peu à peu de taille et de nombre à mesure que s'avance la sporogenèse; ce sont donc des trophochromidies (Mesnil, 1905), et on peut se demander si leur expulsion dans le cytoplasme ne constituerait pas un phénomène d'épuration nucléaire précédant la formation des noyaux sexuels. Peut-être aussi, la chromatine qui les constitue joue-t-elle un rôle pour l'utilisation des substances de réserve accumulées dans les gamontes et préside-t-elle ainsi à la formation et au triage du cytoplasme qui doit entrer dans la constitution des gamètes.

Nous avons vu que dans les schizontes mycétoïdes, le cytoplasme manifeste une certaine affinité pour les colorants nucléaires; de ce fait, ces schizontes se colorent en gris-bleu par l'hématoxyline. Au contraire, le cytoplasme des schizontes grégarinoïdes, riche en réserves, présente, à mesure que la multiplication asexuée marche vers sa fin, de moins en moins d'affinité pour les colorants chromatiques et montre une préférence de plus en plus accusée pour les couleurs acides, notamment l'orange, qui, à ce point de vue, est un des colorants des plus intéressants à employer. Le maximum d'affinité pour l'orange est atteint par les gamontes qui sont accouplés ou sur le point de s'accoupler. De sorte que dans une préparation, coupe ou frottis, il est facile de distinguer l'âge évolutif des parasites d'après le caractère de leur coloration; les schizontes mycétoïdes ayant leur cytoplasme gris-bleu (fig. 13 et 29), tandisque les schizontes grégarinoïdes, les gamontes et les couples ont un cytoplasme d'une belle couleur jaune (fig. 14 à 18). Cette affinité pour l'orange du cytoplasme des gamontes existe aussi comme on le sait chez les Grégarines notamment les *Monocystis* et je l'ai également signalée chez les *Schizocystis*.

Noyau. Le noyau des schizontes grégarinoïdes ne présente sans doute, dans ses éléments constitutifs, rien de plus que celui des schizontes mycétoïdes, mais on peut dire que, par sa taille plus grande, sa forme et la disposition de ses éléments, il se rapproche beaucoup plus du noyau typique des Métazoaires.

Si l'on prend comme type celui des schizontes d'*O. caulleryi* ou d'*O. hessei*, où il atteint une taille assez grande pour permettre une étude de détail, on constate que chez ces espèces, il est sphérique, pourvu d'une membrane épaisse peu ou point chromatique, et renferme un suc nucléaire incolore dans lequel baignent un gros karyosome à périphérie basophile et à centre acidophile, et de la chromatine disposée en grains sur un réseau très net (fig. 16, 21 et 46). En outre,

on voit d'une façon à peu près constante, un grain chromatique toujours beaucoup plus petit que le karyosome, situé dans le suc nucléaire, au milieu du réseau chromatique et parfois tout près de la paroi (fig. 26, 48 et 49). Un tel grain s'observe aussi chez *Stylorhynchus* où je l'ai désigné sous le nom de karyosome.[1]) Dans cette Grégarine il m'a paru qu'il jouait un rôle important dans les phénomènes sexués car on le retrouve dans le noyau des gamètes et on constate que dans la karyogamie, les deux karyosomes de chaque noyau semblent se fusionner pour former un karyosome unique de copulation. Ici, je crois qu'il joue un rôle identique mais il n'est pas possible de le démontrer en raison de la petite taille de cet élément.

Les différents éléments constitutifs du noyau varient d'importance et de position suivant le moment considéré et on peut dire que, chez les *Ophryocystis* comme dans la plupart des cellules de Protozoaires, le noyau n'est jamais semblable à lui-même en deux instants différents.

Prenons comme type le noyau des grands schizontes de *O. caulleryi*. Au stade dit de repos, le noyau sphérique ou légèrement étiré parallèlement à la face basale montre la structure typique (fig. 46), avec nucléole central, chromatine disposée en grains sur un réseau dans lequel se voit le petit grain karyosomien, membrane nucléaire très nette mais à peine teintée, centrosome ordinairement visible sur la membrane.

Au moment de la mitose, les grains de chromatine se rassemblent autour du karyosome en même temps qu'il se constitue à l'intérieur du noyau, une figure achromatique en fuseau (fig. 49*e* et fig. 14 et 47). Les centrosomes occupent alors vraisemblablement chaque pôle du fuseau, mais il est difficile de les distinguer et en tous les cas ils ne sont pas entourés d'un aster cytoplasmique (fig. 14 et 47). Le karyosome est devenu très pâle, ayant cédé sa chromatine périphérique au suc nucléaire ou à l'amas central de grains chromatiques homologue de la plaque équatoriale.

Le noyau s'allonge alors dans le sens du fuseau et sa membrane est encore bien visible. Puis la chromatine se divise en deux groupes de chromosomes mal définis qui s'écartent l'un de l'autre en marchant vers les pôles. Le karyosome reste parfois comme emprisonné dans le fuseau (fig. 49*f*, 45 et 24*e*), mais le plus souvent il tombe dans le suc nucléaire; de toute façon il disparait peu à peu.

[1]) Je préfère le désigner aujourd'hui sous le nom de **grain karyosomien** pour éviter toute confusion avec le nucléole chromatique que j'ai appelé ici karyosome, en accord avec les auteurs récents.

Quant au grain karyosomien, on peut voir, dans beancoup de noyanx, qu'il s'est divisé en denx, comme s'il s'agissait d'un chromosome spécial, chaque grain fille se joignant au groupe de chromosomes correspondant. Souvent même sa division précède celle de la chromatine (fig. 49*c* et *d*).

Le noyau s'étire de plus en plus en même temps que sa membrane devenue à peine visible, s'étrangle en son milieu (fig. 49*g*). Puis les deux noyaux-filles se reconstitnent et restent quelque temps côte à côte (fig. 49*h*). Dans chacun d'enx apparaît un petit karyosome.

Après la reconstitution, le réseau chromatique des noyaux-filles conserve pendant longtemps la position latérale qu'il avait à la fin de la mitose de sorte que l'on tronve fréquemment des noyaux à réseau chromatique en forme de croissant et à karyosome excentrique (fig. 49*a* et *b*). C'est une telle disposition qui est réalisée dans les types de noyaux que j'ai appelés fongiformes et qui sont caractéristiqnes des schizontes mycétoïdes au début (fig. 19*a* et 24*d*).

A côté de ces stades à réseau chromatique en croissant, on trouve fréquemment des noyaux dont presque toute la chromatine s'est condensée snr le karyosome. A peiue en voit-on quelques petits grains en dehors dans un suc nucléaire très clair (fig. 48), tandisqn'an contraire, le karyosome est devenu beancoup plus fortement colorable. Chez *O. caulleryi*, ce stade est de faible durée car on le tronve assez rarement, tandisque chez d'autres espèces notamment *O. mesnili*, il est fréquent (fig. 52 et 53). Le noyau se présente alors sous le simple aspect d'un gros karyosome sphérique baignant dans un suc nucléaire clair avec le petit grain karyosomien simple ou dédoublé, et un centrosome visible et situé sur la membrane.

De tels noyaux à chromatine condensée snr le karyosome s'observeut aussi chez *O. duboscqi*, dans certains schizontes mycétoïdes (fig. 29*a*). On les retrouve aussi chez les gamontes accouplés an cours de la formation des noyaux sexuels et même dans le sporocyste au cours de la formation des sporozoïtes; de sorte qu'il est permis de snpposer qn'ils représentent nn stade constant dans l'évolution dn noyan entre deux mitoses, chez les *Ophryocystis*.

A la snite de ce stade, la chromatine réapparait sur le réseau de linine dans le suc nucléaire, et souvent en quantité considérable. C'est peut-être à ce moment que se produisent les expulsions de chromatine qui donnent naissance aux chromidies (fig. 20 et 26).

Au résumé, la division du noyau des *Ophryocystis* s'effectue snivant un processus mitotique plus simple que chez les Métazoaires car il ne montre ni stade spirème ni monaster.

Dans les premières générations de schizontes grégarinoïdes, on observe parfois, notamment chez *O. hagenmülleri*, un mode de division nucléaire qui paraît extrêmement simplifié. Il semble que, dans ce cas, toute la chromatine d'abord condensée à la surface du karyosome, se divise en deux calottes qui se placent chacune aux extrémités d'un même diamètre de celui-ci. Puis le karyosome qui a perdu ainsi toute colorabilité dans sa région équatoriale, s'étrangle en deux, et il se forme deux noyaux filles pourvus chacun d'une moitié du karyosome primitif avec la calotte de chromatine qui la recouvre. On aurait là une sorte de mitose dans laquelle la figure chromatique serait en quelque sorte constituée par le karyosome ou directement dérivée de lui (fig. 23 et 25); mais il s'agit peut-être d'un processus dont la simplicité n'est qu'apparente, en raison de la petite taille des éléments.

Les caractères morphologiques et évolutifs du noyau que nous venons d'étudier chez *O. caulleryi* se retrouvent également chez toutes les autres espèces à quelques variantes près, dues surtout à la taille et à la forme de l'élément considéré, mais de si peu d'importance qu'il serait superflu d'y insister.

Le noyau des schizontes paucinucléés peut se diviser ainsi une ou deux fois sans que le cytoplasme se découpe ce qui donne les schizontes typiques à 2 et 4 noyaux (fig. 14, 15, 39, 40 et 47). Après quoi le cytoplasme se découpe à son tour, par des incisures qui débutent à la face de fixation et s'étendent ensuite jusqu'au sommet.

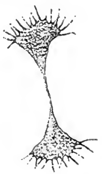


Fig. C texte. Division binaire de *Vampyrella* (d'après ZOPF).

Il arrive aussi assez souvent que la division du cytoplasme suit celle du noyau et que le parasite se multiplie suivant le mode binaire (fig. 25 et 51). Dans tous les cas ces divisions semblent s'effectuer sans que le parasite quitte l'épithélium, et les produits se partagent les radicelles fixatrices. Vus de face, ces stades de division binaire rappellent étonnamment ceux des Amœbiens et particulièrement certains stades de division des *Vampyrella*. J'ai représenté (fig. C texte), un de ceux-ci pour montrer cette curieuse convergence de forme chez des êtres pourtant fort éloignés (comparer ce stade de *Vampyrella* avec celui d'*O. mesnili* (fig. 51).

Gamontes.

Lorsque le parasite est arrivé au terme de la vie végétative, les derniers schizozoïtes mononucléés issus de la division des schizontes grégarinoïdes, ne multiplient plus leur noyau. Ils grossissent en accumulant des réserves et prennent peu à peu une forme massive (fig. 20, 26, 31, 46), en même temps que leur cytoplasme se charge de chromidies.

Bientôt les radicelles s'atrophient, la surface de fixation se rétracte et le parasite se détache (fig. 3). Ainsi se forment les gamontes destinés à s'accoupler deux à deux, dès leur mise en liberté dans la lumière du tube malpighien.

Lorsqu'ils quittent l'épithélium pour s'accoupler, les gamontes ont toujours une forme massive et voisine de la sphère; ainsi *O. mesnili* (fig. 56), *O. hessei* (fig. 17), *O. duboscqi* (fig. 31), ont des gamontes sphériques tandisqu'ils sont d'abord piriformes chez *O. caulleryi* (fig. 3), ou ovoïdes chez *O. schneideri* (fig. 41). Les plus petits gamontes s'observent chez *O. duboscqi* (fig. 31), où ils mesurent 5 μ de diamètre; parmi les plus grands sont ceux de *O. caulleryi* qui atteignent 14 μ.

Le cytoplasme des gamontes, dont j'ai signalé précédemment l'affinité pour l'orange est toujours fortement granuleux, chargé de grains de paraglycogène et souvent de graisse (*O. caulleryi*, *O. mesnili*). En outre il est souvent riche en chromidies, notamment chez *O. hessei* (fig. 17), *O. caulleryi* (fig. 50). Toutefois il importe de rappeler que la présence de ces formations n'est pas constante et varie en outre dans de grandes proportions pour une seule et même espèce. Ainsi, tandisque chez *O. hessei*, certains gamontes au début de l'accouplement montrent de rares chromidies et un noyau assez riche en chromatine (fig. 18), d'autres ont un cytoplasme tellement criblé de formations chromidiales que leur noyau est devenu invisible (fig. D texte). De tels couples, du reste peu fréquents, paraissent pathologiques et je ne pense pas qu'ils continuent leur évolution car leur protoplasme semble manifestement altéré. Cette sorte de maladie chromidienne ne s'observe pas du reste chez d'autres espèces, comme *O. mesnili* par exemple, où les chromidies sont pourtant souvent nombreuses dans les gamontes accouplés. On les voit alors disparaître peu à peu au cours de la gamétogenèse ou bien, ce qui en reste vient se localiser aux deux pôles du kyste et dégénérer avec les reliquats somatiques.



Fig. D texte. Couple d'*O. hessei* encombré par les chromidies. × 1300.

Au moment de l'accouplement, chaque gamonte possède un noyau unique à contour circulaire et situé environ dans le centre de figure.

Ce noyau est semblable à celui des schizontes grégarinoïdes de dernière génération c. à d. qu'il comprend une membrane nucléaire achromatique, de la chromatine sur un réseau et un karyosome (fig. 41). Toutefois, chez *O. hessei* ce karyosome est le plus souvent disparu au moment de l'accouplement, après avoir abandonné sa chromatine au réseau nucléaire qui se montre alors fortement colorable (fig. 18).

Accouplement et Gamétogenèse.

L'accouplement doit résulter de la rencontre fortuite de deux gamontes libérés dans la lumière du tube, ou bien développés côte à côte sur l'épithélium. Les gamontes ne montrent pas en effet de mobilité propre, et ne peuvent par conséquent se rechercher d'une façon active comme chez la plupart des Grégarines.

Pour la formation d'un couple, deux gamontes s'accolent par leur face de fixation dont les radicelles se sont préalablement rétractées et atrophiées (fig. 3 et 4). Puis ils se pressent étroitement l'un contre l'autre jusqu'à former par leur ensemble une figure ovoïde dont la zone équatoriale correspond au plan d'accolement (fig. 58 et 59). Cette zone ou plan d'accolement reste longtemps visible sur le couple comme une ligne épaisse retenant assez fortement la couleur.

On observe parfois des accouplements comprenant 3 gamontes disposés côte à côte, en feuille de trèfle (*O. mesnili*, fig. 57), ou bien l'un derrière l'autre en chaîne (*O. duboscqi*, fig. 33).

On sait que de tels accouplements anormaux ont été signalés assez souvent chez les Grégarines et récemment H. Prandtl (1906) a rappelé un fait analogue chez l'Infusoire *Didinium nasutum*. Je n'ai pas suivi en détail l'évolution de ces ménages à trois car ils sont rares, mais il ne me paraît pas douteux qu'ils ne soient fertiles, et que chaque gamonte n'y remplisse effectivement son rôle, car ils donnent naissance à un sporocyste de taille plus grande que le sporocyste normal et de forme triquètre, ce qui semble démontrer que trois gamètes ont participé à sa constitution. J'ai observé de tels sporocystes triquètres chez *O. schneideri*, où ils m'ont paru renfermer 12 (?) sporozoïtes, chez *O. caulleryi* et chez *O. duboscqi* (fig. 7).

A mesure que les deux gamontes se pressent plus étroitement l'un contre l'autre, ils sécrètent une paroi commune très frêle et souvent difficile à distinguer. Le couple protégé par cette mince enveloppe doit alors être considéré comme l'homologue d'un kyste grégarinien normal.

Avant de suivre la gamétogenèse et la copulation, remarquons que dans chaque couple *d'Ophryocystis* les deux gamontes ne se distinguent en rien l'un de l'autre, ni par la taille, ni par la forme, ni par aucune particularité chromatique. Je signalerai seulement que parfois, chez *O. duboscqi* surtout, l'un des gamontes semble èmettre, vers le centre de sa face d'accolement. une légère saillie conique qui s'enfonce dans une dèpression correspondante du conjoint; mais ce fait est loin d'être constant et caractéristique.

Gamétogénèse. — Ainsique je l'ai dit au début de ce travail les phénoménes de sexualité chez les *Ophryocystis* ont déjà èté entrevus par A. Schneider (1885) qui pensait à juste raison, que le noyau primitif du sporocyste devait résulter de la fusion de deux noyaux respectivement fournis par chaque individu du couple. Et puisque les *Ophryocystis* sont des Grègarines, on peut dire que c'est A. Schneider qui a entrevu le premier le phénomène sexuel présidant à la formation du sporocyste grégarinien. Toutefois, le processus sexué chez les *Ophryocystis* est notablement plus compliqué que ne le pensait cet auteur car il n'y a pas seulement fusion de noyaux sexuels, mais aussi formation et fusion de deux gamètes distincts et différenciation d'une portion somatique dans chaque individu du couple.

On sait en effet, à la suite de mes recherches (1900), que dans chaque gaméte accouplé, va se constituer, aux dépens d'une partie du cytoplasme et d'un noyau réduit, un gamète unique; puis, que les deux gamètes vont ensuite copuler pour donner l'unique sporocyste du kyste des *Ophryocystis.*

La gamètogenèse, la copulation et le développement de la copula en sporocyste s'effectuent, chez toutes les espèces avec une uniformité assez grande pour qu'il suffise ici d'étudier l'ensemble du processus sexué chez une espèce prise comme type, tout en indiquant chemin faisant, les particularités qu'on rencontre chez les autres.

Je prendrai comme type *O. mesnili* dont la taille est grande et chez laquelle les formations chromidiales n'apportent pas d'obstacle à l'observation des phénoménes nucléaires.

Disons d'abord que, dans chacun des gamontes du couple, les phénomènes de gamétogénèse se déroulent exactement de la même façon, de sorte qu'il suffit d'étudier le phénomène dans l'un d'eux; faisons en outre remarquer, que, presque toujours, les divisions nucléaires ne s'effectuent pas d'une façon absolument synchrone dans les deux conjoints, l'un présentant une légère avance sur l'autre au moins au début du phénomène (fig. 41, 59, 60).

Au début de l'accouplement, le noyan du gamonte montre la plus grande partie de sa chromatine condensée à la snrface du karyosome, et dans le suc nucléaire clair se voit le grain karyosomien, avec quelques granulations chromatiques (fig. 58).

Au moment de la première mitose qui survient lorsque les deux gamontes sont intimement accolés, le karyosome abandonne nne partie de sa chromatine périphérique au suc nucléaire qui devient colorable, tandisque le reste va renforcer les grains de chromatine du réseau. Ceux-ci ne sont pas alors épars dans le suc nucléaire, mais ordinairement localisés en nn espace en croissant, d'un même côté du karyosome. En même temps, la membrane nucléaire s'amincit jusqu'à disparaître dans la région occupée par la chromatine et le snc nncléaire irradie quelque peu dans le cytoplasme (noyau en flammes des auteurs). Pendant ce temps, le centrosome s'est dédoublé et les deux centrosomes-filles, entourés d'une sphère archoplasmique s'écartent et viennent occuper les extrémités d'un fuseau intranucléaire à l'équatenr duquel sont rassemblés les grains de chromatine (fig. 59). Le fuseau continue à s'allonger par écartement progressif des centrosomes, en même temps que les grains de chromatine se séparent en denx groupes (fig. 60), qui gagnent peu à peu leur centrosome respectif. A ce stade, il semble parfois que les grains de chromatine affectent une disposition en tétrade. Puis la figure achromatique s'étire d'avantage jusqu'à ce que les centrosomes et leur groupe de grains de chromatine viennent atteindre la surface du corps (fig. 60 et 61), et les noyanx-filles se reconstituent.

Dans cette première mitose, le karyosome ou plutôt ce qui en reste après qu'il a perdu sa chromatine, est expulsé dans le cytoplasme et disparaît rapidement. Mais il s'en recoustitue un autre non moins vite dans les deux noyaux-filles. Quant au petit grain karyosomien, il est difficile de le suivre. Dans certains cas je l'ai vu se diviser de bonne heure et chaque moitié se joindre à un des noyaux-filles. Sa division est même souvent si précoce qu'on pourrait le prendre pour le centrosome.

Chez *O. hessei*, la première mitose rappelle encore davantage une mitose normale. Au début de l'accouplement, le noyau est riche en chromatine disposée en grains sur un réseau et le karyosome est le plus souvent disparu. Un centrosome très net et entouré d'une sphère archoplasmique avec aster, apparait sur la membrane nucléaire. Il se forme ensuite un fuseau achromatique avec fibres fusoriales bien différenciées, et la mitose se déroule normalement avec disparition tardive de la membrane nucléaire, sans être précédée par

un stade de noyau eu flammes (fig. 18). Les mêmes phénomènes s'observent également chez *O. schneideri* (fig. 41).

En résumé, on voit que la première mitose des gamontes *d'Ophryocystis* rappelle dans ses grandes lignes celle des *Monocystis* étudiée par Cuénot (1899 et 1901), Siedlecki (1899), et plus récemment avec beaucoup de soin par Brasil (1905).

Après la première mitose, on constate que les deux noyaux-filles sont semblables et normalement coustitués avec membrane, karyosome chromatine en réseau etc. (fig. 62). A ce stade succède bientôt un stade à chromatine presque entièrement condensée sur le nucléole, avec seulement quelques rares grains à peine visibles daus le suc nucléaire (fig. 63).

De ces 2 noyaux semblables que possède chaque gamoute, un seul, le noyau germinatif, va maintenant se diviser encore une fois pour donner le noyau réduit du gamète, taudisque l'autre, qu'on peut appeler noyau somatique va rester lougtemps sans changements puis dégénérer. Suivons d'abord ce dernier; à cet effet, il gagne la surface du gamonte, le plus souvent vers le pôle où on peut le voir longtemps sous forme d'une vacuole claire allougée avec un gros grain chromatique escorté d'nu certaiu nombre de grains plus petits (*ns* fig. 64 et 65). Tantôt il persiste ainsi jusqu'à la sporulation, tantôt il se fragmente ou bien semble se diviser incomplétement par une sorte d'amitose iuégale. De toute façou il ne joue désormais aucun rôle dans l'acte sexué et disparaît avec le reliquat somatique à la maturité du sporocyste.

Suivons mainteuant le uoyau germinatif. On voit bientôt apparaître en un point de sa surface, une petite saillie sous forme de baguette couique fortement colorable; c'est le centrosome qui va se dédoubler rapidement et diriger la mitose d'où proviendra le uoyau sexuel définitif. Celle-ci s'effectne comme la précédente, et, dans certaines préparations très propices, on peut remarquer que le nombre des grains chromatiques qui était de 8 dans les noyaux issus de la première mitose s'est réduit de moitié dans chacun des noyaux-filles (fig. 65). Cette seconde division nucléaire doit donc être considérée comme réductrice.

Des deux noyaux réduits ainsi formés et naturellement plus petits que les deux premiers, l'un désormais iuutile, le noyau de réduction (*nr* fig. 66), va gagner la partie périphérique du gamonte et dégénérer comme le uoyau somatique dont il se distingue toujours par sa taille plus petite, taudisque l'autre resté dans le voisinage du plan d'accolement, va devenir le noyau sexuel proprement dit

(*ng* fig. 66). A cet effet, autour de lui se condense une sphère de cytoplasme clair, réfringent, libre de tout produit d'excrétion, et légèrement chromophile. C'est le cytoplasme sexuel qui, avec le noyau sexuel, constitue le gamète (fig. 67).

Le gamète, une fois formé, se sépare progressivement du reste du corps du gamonte qui lui a donné naissance; celui-ci conserve les noyaux inutilisés (*ns* et *nr* fig. 66 à 75), des chromidies et divers produits d'excrétion; on peut alors le désigner comme partie somatique ou soma du gamonte.

Ce soma présente la forme d'une calotte ou d'une cloche à paroi d'inégale éppaisseur suivant la position du gaméte et recouvrant celui-ci sauf du côté du plan d'accolement (fig. 67). Son cytoplasme conserve longtemps l'affinité caractéristique pour l'orange; mais il se liquéfie peu à peu et finit par disparaître en même temps que le soma se flétrit, aprés la maturation du sporocyste.

Copulation et développement de la copula en sporocyste.

Chaque gamète ainsi formé est une cellule une à peu près sphérique de 5 μ de diamétre, à cytoplasme alvéolaire basophile, avec un noyau à contour circulaire muni d'un karyosome et de corpuscules chromatiques (chromosomes) qui semblent au nombre de 4, dans les rares circonstances où on peut les compter.

La taille des gamètes varie naturellement avec les espèces, mais leur forme est partout globuleuse; à signaler cependant ceux de *O. duboscqi* qui sont plutôt ovoïdes, de petite taille, et donnent une copula d'abord piriforme (fig. 35).

Je n'ai pas réussi à reconnaître de différence quelconque entre les deux gamètes qui sont destinés à copuler dans chaque kyste *d'Ophryocystis*. De même taille et de même forme ils sont, d'après leur mode même de formation, situés si près l'un de l'autre, qu'ils n'ont pour ainsi dire aucun trajet à effectuer pour venir en contact. Il suffit pour cela que la paroi des gamontes se résorbe au niveau du plan d'accolement, ce qui se produit normalement au cours de la gamétogenèse, de sorte que les deux gamètes, déjà contigus aussitôt après leur formation (fig. 67) ne tardent pas à se fusionner (fig. 68). Le stade de kyste à gamètes distincts est, par cela même, de très courte durée, et, en conséquence, s'observe peu fréquemment.

La fusion des deux gamètes donne une copula d'abord ovoïde puis bientôt sphérique qui se place dans la zône moyenne du kyste (fig. 69 et fig. 34). A son intérieur, les deux noyaux se rapprochent et finalement se fusionnent en un synkarion dans lequel on voit quelque

temps deux karyosomes encore distincts (fig. 70); finalement ceux-ci se réunissent, et la copulation est accomplie. La copula prend alors une forme ovoïde biconique et montre déjà une mince paroi (fig. 71).

La copula devenue sporocyste va maintenant donner naissance à 8 sporozoïtes comme chez les Eugrégarines. A cet effet une première mitose (fig. 72), donne deux noyaux (fig. 73), qui passent par un stade à chromatine condensée sur le karyosome comme dans les autres phases de l'évolution des *Ophryocystis*, puis se divisent à leur tour pour donner 4 noyaux qui gagnent la périphérie (fig. 74). A ce moment une double paroi résistante se voit à la surface du sporocyste. Finalement, une dernière division des noyaux donne les 8 noyaux définitifs, et le cytoplasme se divise en autant de sporozoïtes qui se disposent en méridiens autour de quelques granulations résiduelles centrales (fig. 75).

A part quelques variantes morphologiques sans importance, la copulation et la sporulation s'effectuent de la même façon chez les autres espèces *d'Ophryocystis*. Ainsi chez *O. duboscqi*, la copula d'abord piriforme (fig. 35), devient ensuite sphérique (fig. 34), pour s'étirer de nouveau en un long sporocyste en fuseau (fig. 36). Chez *O. schneideri*, en raison de la forme très allongée du couple, le sporocyste présente également une forme ovoïde allongée (fig. 37*a*). On peut donc dire que le processus sexué se déroule chez tous les *Ophryocystis* avec une remarquable uniformité.

Parthénogénèse.

Dans toutes les espèces *d'Ophryocystis*, on observe parfois comme l'avait déjà vu Schneider chez *O. bütschlii* des couples chez lesquels il se forme un sporocyste dans chacun des gamontes (fig. 28), ou bien un seul sporocyste dans l'un des gamontes, l'autre restant stérile ou n'ayant pas encore développé son produit (fig. 50 et 76).

Il s'agit là d'un développement parthénogénétique des gamètes qui, ne trouvant pas les conditions voulues pour copuler, évoluent individuellement en donnant chacun un sporocyste de taille naturellement plus petite que celui qui dérive d'une copula.

Ces sporocystes parthénogénétiques paraissent être fertiles au moins dans la plupart des cas; j'en ai observé un au stade de 4 noyaux chez *O. caulleryi* (Fig. 50, et Schneider (1885) dit que lorsqu'un kyste renferme 2 de ces sporocystes, l'un des deux au moins arrive à maturité.

La cause de cette évolution parthénogénétique des gamètes me paraît devoir être recherchée, avant tout, dans le fait que l'un des

gamontes du couple, sans doute trop jeune, effectue trop tardivement sa gamétogénèse; de sorte que le premier gamète mûr, ne tronvant pas de partenaire, continue son évolntion en sporocyste. Lorsque le second gamète arrive à son tour à maturité, il se trouve dans les mêmes conditions d'isolement qne le premier et donne également un sporocyste parthénogénétique. Il en résulte qne les deux sporocystes ainsi formés dans un même couple, sont toujours et forcément d'âge différent; ce qui est facile à constater, tont au moins tant que les denx sporocystes n'ont pas atteint leur maturité. On en voit toujours un plus avancé que l'antre; par exemple chez *O. hagenmülleri* (fig. 28) où le gamonte inférienr a déjà donné un sporocyste à paroi résistante, tandisque le supérieur est encore au stade de gamète sphérique nu.

Ceci explique pourquoi A. SCHNEIDER croyait que, dans les cas ou chaque gamonte donne un sporocyste, un seul de ceux-ci pouvait mûrir; car il considérait l'autre, encore au stade de gamète globuleux et nu, comme une forme de dégénérescence. Pour la même raison, on trouve parfois des couples dont l'un des gamontes a déjà formé un gamète ou même un sporocyste parthénogénétique immatnre, tandisqne l'antre est encore au stade à 3 noyaux (fig. 76).

Enfin, la formation d'un sporocyste parthénogénétique dans l'un des gamontes senlement, peut avoir pour cause la mort de l'autre gamonte, pendant l'accouplement.

Or, nous savons (LÉGER, 1904), qne chez les *Stylorhynchus*, les gamètes ne possèdent pas, dans les mêmes circonstances, de pouvoir parthénogénétique, ce qui est sans doute le résultat de leur différenciation sexuelle. Au contraire, le fait qne chez les *Ophryocystis*, les deux gamètes d'un senl et même kyste peuvent donner indifféremment un sporocyste parthénogénétique semblable, montre bien que chacun des éléments sexuels qui entrent en jeu dans la copulation, a potentiellement la même valeur génétiqne, ce qui est un caractère nécessaire de l'isogamie.

Un fait assez remarqnable, c'est qu'on ne voit pas de gamonte isolé donner naissance à un sporocyste parthénogénétique, de telle sorte qu'il est rationnel d'admettre que la formation des gamètes nécessite tout au moins l'accouplement, c'est à dire qn'une certaine excitation ou réaction mntuelle est nécessaire de la part de chaque gamonte accouplé pour le développement de ses éléments sexuels. On sait du reste que chez les Monocystidées (voir à ce sujet BRASIL, 1905), les enkystements solitaires sont stériles; de même chez plusieurs espèces de *Gregarina* j'ai toujours vu les individus enkystés solitairement mourir sans donner d'éléments sexuels.

Mise en liberté du sporocyste.

Chez toutes les espèces *d'Ophryocystis*, les sporocystes mûrissent dans la lumière même des tnbes de Malpighi. Après leur maturité la paroi kystique et les reliquats somatiques dégénérent et se liqnéfient, de sorte que, la plupart du temps, ils arrivent dans le rectnm puis dans le milieu extérieur, libres de toute enveloppe accessoire.

Dans la plupart des espèces, la paroi kystique commune, simple est si frêle qn'aucune action intrinsèque on extrinsèque n'est nécessaire ponr mettre le sporocyste en liberté car elle disparaît d'elle-même à la matnrité (*O. mesnili*, *O. caulleryi*, *O. schneideri*, etc.). Chez *O. duboscqi*, la paroi n'est pas non plus bien résistante, mais les débris somatiques forment à chaque extrémité dn sporocyste une espéce de capnchon protecteur qui reste longtemps adhérent (fig. 12).

Chez *O. hagenmülleri*, la paroi kystiqne est notablement plus épaisse que dans les espèces précédentes, ainsi qne cela se voit très bien sur les préparations. Le sporocyste est alors mis en liberté par une sorte de déhiscence dn kyste lequel présente, en réalité, deux enveloppes à la maturité (fig. 8). L'enveloppe la plus externe se sépare d'abord par une ligne circnlaire équatoriale en deux calottes qni se flétrissent et tombent (fig. 9 et 10), puis l'enveloppe interne se perce d'une large ouverture aux denx pôles; les bords de cette ouvertnre se rétractent ensuite et s'enroulent en dedans, d'abord à l'nne puis à l'autre extrémité, ce qui chasse le sporocyste au dehors (fig. 10).

D'après les observations de Schneider, chez *O. bütschlii*, il se constitne nn appareil protectenr du sporocyste encore plus complexe, en ce sens que les gamontes accouplés sécrètent successivement une série d'enveloppes au conrs de la sporulation. Celles-ci se trouvent finalement emboitées les nnes dans les autres, comme une pile de chapeaux de clown et les plus extérieures qui sont aussi les premières formées, tombent à mesure qu'il s'en reforme de nouvelles.

Résumé comparatif.

En terminant cette première partie de mon travail concernant la morphologie et l'évolution des *Ophryocystis*, je résumerai simplement l'ensemble des caractères que j'ai étudiés pour montrer quelles relations étroites nnissent ces organismes aux Grégarines proprement dites et justifier ainsi ma manière de voir concernant leur position systématiqne.

Comme les Grégarines, les *Ophryocystis* ont une forme de résistance. le sporocyste, résultant de la copulation de deux gamètes et renfermant à maturité, 8 germes ou sporozoïtes.

Le sporozoïte arrivé chez l'hôte approprié se développe en état végétatif sans passer par un stade intracellulaire, comme les *Pterocephalus* [type 1 de LÉGER et DUBOSCQ (1904)]. Ces états végétatifs sont ici des schizontes qui, chez certains espèces, revêtent un caractère mycétoïde c. à. d. sans forme constante et définie, mais dont la série se termine toujours par des stades de forme et d'orientation constantes (schizontes grégarinoïdes). Le seul caractère évolutionnel qui les distingue des Eugrégarines est précisement ce pouvoir de multiplication schizogonique au terme de laquelle chaque individu se comporte comme une Grégarine adulte pour assurer la formation des spores de résistance ou sporocystes. A savoir: accouplement deux à deux; différenciation dans chaque conjoint ou gamonte d'une partie somatique et d'une partie sexuelle, le gamète; copulation des gamètes pour donner le sporocyste et mort de la partie somatique.

A part la schizogonie qui est le caractère essentiel du sous-groupe des Schizogrégarines, on voit que deux particularités seulement, semblent éloigner quelque peu les *Ophryocystis* des Grégarines proprement dites. Ce sont, la présence de stades végétatifs mycétoïdes chez certaines espèces et la formation d'un unique sporocyste dans le kyste de toutes les espèces.

Or, le schizonte mycétoïde est une déformation du type conique normal, due à la grande activité proliférative du parasite qui se développe rapidement dans un espace restreint et doit subir de ce fait des altérations morphologiques comparables à celles que présentent les stades asexués de certains entozoaires polygénétiques à reproduction active. (Cf. les sporocystes rameux de certains Trématodes.)

Ces schizontes mycétoïdes perdent ainsi leur caractère morphologique normal vers la fin de leur croissance, mais leurs produits ou schizozoïtes le reprennent et finalement les schizontes grégarinoïdes sont toujours de forme et d'orientation définies. Il ne faut donc pas voir dans ces stades mycétoïdes, un rappel d'une forme ancestrale amœbienne mais simplement un phénomène de convergence résultant d'une vie étroitement parasitaire et d'une grande activité de développement.

Quant à la formation d'un seul gamète dans chaque individu du couple et, par suite, d'un seul sporocyste par kyste, elle n'est, en somme, que la conséquence de la multiplication schizogonique des stades végétatifs qui, répétée un grand nombre de fois, dissocie en quelque sorte le trophozoïte primitif. Cette dissociation ou mieux

cette division de la masse végétative est ici poussée jusqu'à la limite puisque chacun des derniers termes de la série agame ne donne plus qu'un seul élément sexuel. Ainsi que je le faisais remarquer plus haut, il y a là un phénomène comparable à celui qui s'observe chez les Cestodes polymériques où nous voyons ceux qui ont un grand pouvoir de multiplication agame (*Echinococcifer echinococcus*), être de petite taille et ne donner qu'un nombre très restreint d'œufs, tandisque ceux qui sont monogénétiques (*Tæniarhynchus saginata* p. ex.) atteignent une grande taille et donnent un nombre immense d'œufs. De même, chez les Eugrégarines où le trophozoïte ne subit pas de dissociation schizogonique, la taille des gamontes est toujours considérable et les sporocystes produits en grand nombre, tandisqne chez les Schizogrégarines et les Coccidies qui montrent une active reproduction agame, les individus sexués et les kystes sont toujonrs de petite taille et ces derniers ne renferment jamais qu'un nombre très restreint de sporocystes.

Des considérations d'ordre plus général suscitées par l'étude des Schizogrégarines tronveront mieux leur place à la suite de mon travail sur *Schizocystis* qui doit complèter prochainement celui-ci.

Pour le moment je considérerai comme snffisamment démontré que, au point de vue morphologique comme au point de vue de leur évolution, les *Ophryocystis* doivent, sans conteste, rentrer dans le grand groupe des Grégarines. Ce sont des Schizogrégarines à gamonte monogamétique et à copulation isogame.

Partie Systématique.

Cette partie systématique comprend la description de toutes les espèces *d'Ophryocystis* actuellement connues.

Genre ***Ophryocystis*** A. Schneider.

Schizogrégarines monocystidées à développement extracellulaire. Schizontes de forme conique fixés à l'épithélium par de nombreuses radicelles. Gamontes monogamétiques. Isogamie. Un seul sporocyste octozoïque par copularinm.

Habitat: Jusqu'ici observé seulement dans les tubes de Malpighi des Coléoptères. 9 espèces actuellement connues: [1])

[1]) Toutes les figures de texte se rapportant à la partie systématique ont été dessinées à la même échelle (× 1500 d.) pour faciliter la comparaison entre les différentes espèces.

1. *Ophryocystis bütschlii* [A. Schneider] (1883).
(Fig. E texte.)

Schizontes coniques à sommet largement arrondi et montrant de 1 à 10 noyaux.

Gamontes sphériques de 12 à 14 μ.

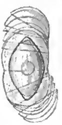


Fig. E texte.
O. bütschlii kyste et sporocyste mûr d'après A. Schneider. × 1500 d.

Couple largement ovoïde de 16 à 20 μ (grand axe) sur 13 à 14 μ (petit axe). Le kyste est protégé par de nombreuses enveloppes ou coiffes concentriques qui se forment et se détachent successivement.

Sporocyte biconique ventru de 12 à 14 μ sur 7 à 8 μ.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Blaps* sp. à Poitiers.

Nota: J'ai donné les caractères de cette espèce d'après la description d'A. Schneider (1884). Le nom spécifique de l'hôte n'est pas indiqué car A. Schneider ne le donne pas. Il est probable qu'il s'agit d'une espèce fréquente dans le centre de la France, vraisemblablement *B. mucronata* (Latr.).

2. *Ophryocystis francisci* [A. Schneider] (1885).
(Fig. F texte.)

Schizontes grégarinoïdes ou paucinucléés de forme conique très allongée.

Schizontes mycétoïdes (?) multinucléés massifs montrant jusqu'à 12 noyaux (dans un des dessins d'A. Schneider).



Fig. F texte.
O. francisci d'après A. Schneider.

Gamontes ovoïdes.

Couple ovoïde allongé de 20 μ × 11 μ (dimensions incertaines) à paroi kystique simple.

Sporocyste biconique à contour vaguement polyédrique de 10 à 11 μ sur 7 μ à 7 μ 50.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Akis algeriana* à Oran et de *A. acuminata* à Malaga.

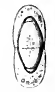
Nota: Cette espèce est décrite ici d'après la note de Schneider (1885). Les dimensions données sont incertaines car A. Schneider ne les donne pas. Je les ai prises sur les dessins de l'auteur en les rapportant à l'échelle qu'il donne pour *O. bütschlii* lequel, selon les plus grands probabilités, a été dessiné au même grossissement.

3. *Ophryocystis schneideri* [LÉGER et HAGENMÜLLER] (1900).
(Fig. 37 à 42 et fig. G texte.)

Schizontes grégarinoïdes avec 1 à 4 noyaux; de forme conique d'abord surbaissée (générations de début) (fig. 39 et 40), pnis très allongée (fig. 42). Pas de schizontes mycétoïdes.

Gamontes ovoïdes de 10 à 11 $\mu \times 8 \mu$.

Couple ovoïde allongé (fig. 37 et 41) de 16 μ à 18 $\mu \times 7 \mu$ avec une très mince enveloppe kystiqne.


Fig. G texte. *O. schneideri.*

Sporocyste biconique de 11 μ sur 5 μ 5 avec un épaississement de la paroi en forme de calotte à chaqne pôle. Chacune de ces calottes recouvre ainsi nn orifice polaire de déhiscence (fig. 11 et 37*a*). Parfois sporocystes triquètres résultant de la copulation de 3 gamètes.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Blaps magica* (ERICHS.) à Bône (Algérie).

Nota: J'ai aussi observé une seule fois le parasite dans l'intestin, chez un *Blaps* dont les tubes de Malpighi étaient bondés *d'Ophryocystis* à tous les stades de développement. Les formes végétatives intestinales étaient massives et montraient jusqu'à 8 noyaux. Je crois que ce siège dn parasite dans l'intestin est tout à fait exceptionnel.

4. *Ophryocystis hagenmülleri* [LÉGER] (1900).
(Fig. 8 à 10 et 19 à 28 et fig. H. texte.)

Schizontes mycétoïdes, rameux ou massifs (fig. 19, 24 et 27) comportant souvent 28 à 30 noyanx et même davantage.

Schizontes grégarinoïdes en cône surbaissé on en cloche (fig. 20, 24*e* et 26).

Gamontes à peu près sphériques de 10 μ de diamètre en moyenne; à cytoplasme souvent chargé de chromidies sons forme de bâtonnets.


Fig. H texte. *O. hagenmülleri.*

Couple ovoïde court de 15 μ 5 sur 10 μ. Une donble enveloppe kystique. La première, mince, se détache en 2 calottes à la maturité. La seconde plus épaisse se perce ensuite aux deux pôles et se recroqueville ponr chasser le sporocyste (fig. 9 et 10).

Sporocyste biconique ventrn de 10 μ sur 8 μ; à paroi épaissie en une sorte de bouton brillant aux denx pôles.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Olocrates gibbus* (Fabr.) dans les dunes qui avoisinent le Laboratoire de Wimereux. 1 individu d'infesté sur 10 environ.

5. *Ophryocystis caulleryi* [Léger] (1900).
(Fig. 2 à 5 et 43 à 50 et fig. I texte.)

Schizontes grégarinoïdes de grande taille; coniques ou en cloche avec un prolongement caudal au pôle distal (fig. 45, 46 et 47), à cytoplasme fréquemment chargé de grains chromatiques et de graisse. Prolongement fixateurs souvent fort longs et larges à la base (fig. 2 et 5). Pas de schizontes mycétoïdes multinucléés.

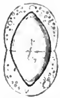


Fig. I texte. *O. caulleryi*.

Gamontes de 13 à 14 μ de diamètre; d'abord piriformes (fig. 3 et 4) puis hémisphériques après l'accouplement.

Couple ovoïde de 18 à 20 μ sur 11 à 12 μ, à enveloppe commune à peine visible.

Sporocyste ovoïde biconique de 15 à 16 μ sur 9 μ avec un léger épaississement de la paroi aux deux pôles. Nombreux grains chromatiques dans le reliquat somatique.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Scaurus tristis* (Ol.) à Oran et à Banyuls-sur-mer.

Nota: Dans les tubes de Malpighi des *Scaurus* d'Oran, jai trouvé plusieurs fois, avec les *Ophryocystis*, des Nématodes ordinairement cantonnés vers l'extrémité distale.

6. *Ophryocystis mesnili* [Léger] (1900).
(Fig. 51 à 76 et fig. K texte).

Schizontes grégarinoïdes avec 1 à 4 noyaux rarement plus, en forme de cône surbaissé ou de cloche. Cytoplasme souvent chargé de grains chromatoïdes. Pas de schizontes mycétoïdes.



Fig. K. texte. *O. mesnili*.

Gamontes sphériques, de 11 μ environ de diamètre.

Couple largement ovoïde de 16 à 17 μ sur 11 μ, à paroi commune indistincte.

Sporocyste biconique ventru de 11 μ sur 7 μ 40.

Habitat: Tubes de Malpighi de *Tenebrio molitor* (L.) aux environs de Grenoble.

7. *Ophryocystis perezi* n. sp.
(Fig. L texte.)

Schizontes grégarinoïdes en forme de cône surbaissé puis de dôme.

Gamontes sphériques de 9 μ environ.

Couple largement ovoïde de 14 μ 50.

Sporocyste ovoïde biconique très renflé de 11 μ $\times$ 8 μ.

Habitat: Tubes de Malpighi du *Dendarus tristis* (Ross.) à Cavalière.


Fig. L texte. *O. perezi.*

Cette espèce que je dédie à mon collègue le Professeur Ch. Pérez de Bordeaux, est encore insuffisamment inconnue surtout en ce qui concerne les stades végétatifs et la schizogonie. J'ignore si elle possède des schizontes multinucléés et je n'ai pas suivi chez elle le processus sexné. A ces divers points de vue elle mériterait d'être étudiée à nouveau. Elle est malheureusement peu fréquente au moins à Cavalière ou je n'ai trouvé que deux individus d'infestés sur un grand nombre d'examinés.

8. *Ophryocystis hessei* n. sp.
(Fig. 13 à 18 et fig. M texte.)

Schizontes mycétoïdes massifs ou mamelonnés à noyaux très denses et très nombreux (fig. 13) étroitement appliqués sur l'épithélium.

Schizontes grégarinoïdes en dôme ou en cône surbaissé (fig. 14 à 15 et 16).

Gamontes sphériques de 9 à 10 μ de diamètre; à cytoplasme souvent chargé de corps chromatoïdes en forme de clous (fig. D texte).

Couple largement ovoïde de 13 μ sur 9 μ 60, à paroi kystique commune indistincte.


Fig. M texte. *O. hessei.*

Sporocyste biconique avec un épaississement pariétal à chaque pôle, sous forme d'un petit bouton réfringent légèrement aplati. Sporozoïtes étroitement tassés et disposés suivant des lignes méridiennes avec ordinairement un seul grain brillant central comme reliquat. Assez souvent, microsporocystes parthénogénétiques.

Habitat: Tubes de Malpighi de *l'Omophlus brevicollis* (Muls.) Mont-Rachais aux environs de Grenoble. 2 individus infestés sur 10 ♀ recueillis au printemps.

L'espèce est dédiée à Ed. Hesse, préparateur de Zoologie à la Faculté des Sciences de Grenoble qui m'a aidé à rechercher ces rares parasites.

9. *Ophryocystis duboscqi* n. sp.
(Fig. 12 et 29 à 36 et fig. N texte.)

Schizontes mycétoïdes massifs ou rameux (fig. 29 et 30) paraissant étroitement appliqués sur l'épithélium et fixés par une sorte de ventouse (fig. 29*a* et *c*).

Schizontes grégarinoïdes de très petite taille, en forme de dôme ou de cloche, à radicelles souvent portées sur de courts prolongements de la base du corps (fig. 32).



Fig. N texte.
O. duboscqi.

Gamontes globuleux, de 5 μ à peine de diamètre, avec nombreux petits grains chromatoïdes.

Couple ovoïde de 8 μ sur 5 μ en moyenne, à paroi kystique commune assez mince.

Sporocyste fusiforme allongé, d'aspect très réfringent in vivo; presque aussi long que le grand diamètre du couple (fig. 12 et 36) et mesurant de 8 μ $\times$ 2 μ 50 à 8 μ 80 $\times$ 3 μ. Sporocystes triquètres assez fréquents, de 9 μ $\times$ 4 μ 50 (fig. 7).

Habitat: Tubes de Malpighi de *Otiorhynchus meridionalis* (Gyll.) à Cavalière; de *Otiorhynchus ligustici* (L.) de la forêt d'Uriage; et de *Otiorhynchus fuscipes* (Ol.) de la Chartreuse.

Cette espèce que je dédie à mon collaborateur et ami le Professeur Duboscq de Montpellier, s'éloigne nettement, par sa taille et la forme de ses sporocystes, des *Ophryocystis* des Ténébrionides lesquels présentent tous au contraire une si remarquable uniformité. La forme qui se rencontre dans les *Otiorhynchus ligustici* a souvent son sporocyste un peu plus gros que celle des *O. meridionalis* mais je ne pense pas que ce caractère soit suffisant pour en faire une nouvelle espèce.

Index bibliographique.

1902 Brasil, L.: Joyeuxella toxoïdes sporozoaire parasite de ... Lagis koreni (Malm.). Arch. zool. expér. et gén., Notes et revue No. 1.

1905 —: Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. zool. expér. T. IV No. 2 4e série.

1906 —: Eleutheroschizon duboscqi spor. nouv. parasite de Scoloplos armiger. Arch. Zool. expér., Notes et revue Vol. IV No. 2 p. XVII—XXII.

1898 Caullery, M. et Mesnil, F.: Sur une Grégarine ... présentant ... une phase de multiplication asporulée. C. R. Ac. d. Sc. Paris CXXVI p. 262.
1899 —: Sur quelques parasites internes des Annélides. Miscellanés biol. dédiées au Prof. A. Giard. Trav. Stat. zool. Wimereux p. 80—89 Pl. IX.
1897 Cuénot, L.: Evolution des Grégarines cœlomiques du Grillon domestique. C. R. Ac. d. Sc. Paris CXXV p. 52.
1899 —: Sur la prétendue conjugaison des Grégarines. Bibliog. anat. T. VII.
1901 —: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. XVII.
1899 Léger, L.: Quelques types nouveaux de Dactylophorides de la région méditerranéenne. Miscellanées biol. dédiées au Prof. Giard. Trav. Stat. zool. Wimereux p. 390—395 Pl. XXIV.
1900 —: Sur un nouveau Sporozoaire des larves de Diptères (Schizocystis). C. R. Ac. d. Sc. Paris CXXXI p. 722.
1900 —: La reproduction sexuée chez les Ophryocystis. C. R. Soc. de Biol. Paris p. 927—930.
1904 —: La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. III 1904.
1899 Léger, L. et Duboscq, O.: Sur les tubes de Malpighi des Grillons. C. R. Soc. de Biol. Paris 11e série T. 1.
1901 —: Sur les premiers stades du développement de quelques Polycystidées. C. R. Ac. d. Sc. Paris CXXXIII p. 439.
1902 —: Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasitologie T. VI No. 3.
1904 —: Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal. Arch. f. Protistenk. Bd. IV.
1906a —: Sur l'évolution des Grégarines gymnosporées des Crustacés. C. R. Ac. d. Sc. Paris CXLII p. 1225.
1906b —: L'évolution d'une Aggregata de la Seiche chez le Portunus depurator. C. R. Soc. d. Biol. Paris p. 1001.
1900 Léger, L. et Hagenmuller, P.: Sur la morphologie ... de l'Ophryocystis schneideri n. sp. Arch. zool. expér. et gén., Notes et revue (3) p. XL—XLV.
1905 Léger, L. et Hesse, E.: Sur un nouveau protiste parasite des Otiorhynques. C. R. Soc. d. Biol. Paris p. 92.
1905 Mesnil, F.: Chromidies et questions connexes. Bull. Inst. Pasteur T. III No. 8.
1906 Moroff, Th.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. C. R. Ac. d. Sc. Paris CXLII p. 652.
1903 Nusbaum, J.: Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung ... Gregarine Schaudinella henleae. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXV Heft 2 1903.
1906 Prandtl, H.: Die Konjugation von Didinium nasutum (O. F. M.). Arch. f. Protistenk. Bd. VII Heft 2.
1883 Schneider, A.: Ophryocistis bütschlii n. sp. C. R. Ac. de Sc. Paris XCVI p. 1378. Aussi dans Journ. de Micrographie VII. année p. 324.
1884 —: Ophryocystis bütschlii, sporozoaire d'un nouveau type. Arch. zool. expér. et gén. 2e série T. II.
1885 —: Ophryocystis francisci. Tabl. Zool. Poitiers T. 1.
1899 Siedlecki, M.: Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiae. Bull. intern. Ac. d. Sc. Cracovie, Déc. 1899.

Explication des Planches.

Planche V.

Dessins in vivo. $\times$ 2000.

Fig. 1. Portion d'une colonie d'*Ophryocystis schneideri* (Léger et Hagenm.) vue de face après une légère compression, entre lame et lamelle, d'un tube de Malpighi de *Blaps magica* (Erichs.) infesté. Les parasites sont encore peu nombreux ce qui permet de voir leur agencement et les différentes phases de leur division. *a* individu uninucléé; *b* jeune individu fusiforme; *c*, *d*, *e* différents stades de la division binaire.

Fig. 2. Un individu uninucléé d'*Ophryocystis caulleryi* (Léger) pour montrer son aspect in vivo immédiatement après son détachement de l'épithélium (liquide physiologique).

Fig. 3. Gamonte d'*O. caulleryi* venant de quitter l'épithélium et sur le point de s'accoupler. Les radicelles se flétrissent et s'atrophient.

Fig. 4. Accouplement chez *O. caulleryi*.

Fig. 5. Stade végétatif ou schizonte grégarinoïde d'*O. caulleryi* vers la fin de la division nucléaire.

Fig. 6. Altération pseudo-flagellaire du corps de l'*O. caulleryi* sous l'action prolongée de l'eau salée.

Fig. 7. Kyste et sporocyste triquètre de *O. duboscqi* (Léger).

Fig. 8—10. Kyste mûr et mise en liberté du sporocyste chez *O. hagenmülleri* (Léger).

Fig. 11. Déhiscence du sporocyste de *O. schneideri*.

Fig. 12. Kyste et sporocyste mûr de *O. duboscqi*.

Planche VI.

Fig. 13 à 18. *Ophryocystis hessei* (Léger) de *Omophlus brevicollis* (Muls.).

Fig. 19 à 28. *Ophryocystis hagenmülleri* (Léger) de *Olocrates gibbus* (Fabr.).

Fig. 29 à 36. *Ophryocystis duboscqi* (Léger) de *Otiorhynchus meridionalis*. (Gyll.).

(Dessins d'après des coupes ou des frottis.) $\times$ 2000.
(Fixation subl. alc., Color. Hémat. orange.)

Fig. 13. *O. hessei*, schizonte mycétoïde en place sur l'épithélium.

Fig. 14. id., schizonte grégarinoïde à 2 noyaux en division.

Fig. 15. id., schizonte grégarinoïde à 4 noyaux.

Fig. 16. id., gamonte en voie de croissance, fixé à l'épithélium.

Fig. 17. id., gamonte mûr avec chromidies.

Fig. 18. id., couple au début des phénomènes sexués.

Fig. 19. *O. hagenmülleri*, *a* schizonte mycétoïde à gros noyaux au moment de la schizogonie (vu de profil sur une coupe), *b* schizozoïte déjà gros.

Fig. 20. id., gamonte fixé à l'épithélium avec chromidies sortant du noyau.

Fig. 21. id., jeune gamonte.

Fig. 22. id., jeune schizonte mycétoïde à noyaux nombreux et petits.

Fig. 23. id., jeunes schizontes grégarinoïdes.

Fig. 24. id., coupe d'une portion de tube de Malpighi d'*Olocrates gibbus* en une région fortement infestée montrant divers stades d'évolution du parasite. *a*, *b*, *c*, *d* divers schizontes mycétoïdes, *e* schizonte grégarinoïde.

Fig. 25. id., jenne schizonte grégarinoïde en voie de division binaire.
Fig. 26. id., gamonte encore fixé à l'épithélinm.
Fig. 27. id., schizonte mycétoïde massif, libre, vu de face.
Fig. 28. id., conple avec sporulation parthénogénétiqne.
Fig. 29. *O. duboscqi*, *a* et *c* schizontes mycétoïdes en place sur l'épithélium des tubes de Malpighi de *l'Otiorhynchus meridionalis*, *b* stades de début.
Fig. 30. id., schizonte mycétoïde rameux vu de face.
Fig. 31. id., gamonte adulte détaché de l'épithélinm et prét à s'acconpler.
Fig. 32. id., schizonte grégarinoïde fraîchement arraché de l'épithélium.
Fig. 33. *O. duboscqi*, chaîne de 3 gamontes.
Fig. 34. id., kyste et copnla après la fusion des noyanx.
Fig. 35. id., stade à copula piriforme.
Fig. 36. id., kyste avec sporocyste mûr.

Planche VII.

Fig. 37 à 42. *Ophryocystis schneideri* (Léger et Hagenmuller) du *Blaps magica* (Erichs.).
Fig. 43 à 50. *Ophryocystis caulleryi* (Léger) dn *Scaurus tristis* (Ol.).

(Dessins d'après des coupes on des frottis. — Fixat. et color. comme pour la Pl. précédente.) $\times$ 2000 sauf ponr la fig. 43.

Fig. 37. *O. schneideri*, *a* kyste avec sporocyste mûr, *b* coupe transversale d'un sporocyste mûr.
Fig. 38. id., jenne schizonte au début.
Fig. 39. id., schizonte grégarinoïde à la fin de la première division nucléaire.
Fig. 40. id., schizonte grégarinoïde à 4 noyaux, *c* cils de la bordure en brosse de l'épithélinm malpighien.
Fig. 41. id., conple au début. Première mitose dans l'nn des conjoints.
Fig. 42. id., gamontes grégarinoïdes encore an stade végétatif et fixés à l'épithélinm.
Fig. 43. *O. caulleryi*, coupe d'nn tnbe de Malpighi de *Scaurus tristis* (Ol.) infesté par *O. caulleryi* et montrant divers stades de l'évolntion dn parasite. (Hématox. ferr. — Orange G.) $\times$ 750. Les parasites colorés ponr la plnpart en janne orange, tranchent nettement snr le cytoplasme foncé de l'hôte. *N* noyan d'nne cellule épithéliale dn tube de Malpighi. *m* coupe transversale d'une bandelette mnscnlaire.
Fig. 44. id., sporocyste observé snr nne coupe pour montrer les sporozoïtes; il en resté seulement 4 mais leur nombre total est de 8.
Fig. 45. id., schizonte grégarinoïde montrant le prolongement candal caractéristique de cette espèce. Chromidies dans le cytoplasma.
Fig. 46. id., schizonte grégarinoïde nninucléé.
Fig. 47. Id., schizonte grégarinoïde à 2 noyanx dont l'un est en division.
Fig. 48. id., noyan an stade de chromatine condensée en grande partie snr le karyosome. Dans le suc nncléaire se voit le petit grain karyosomien.
Fig. 49. id., *a* à *h* divers stades de la division dn noyan des schizontes.
Fig. 50. id., couple à spornlation parthénogénétique. Le sporocyste est formé seulement chez l'un des conjoints; chez l'autre, stade de réduction. Nombrenses chromidies dans le cytoplasma.

Plauche VIII.

Toutes les figures se rapportent à *Ophryocystis mesnili* (Léger) du *Tenebrio molitor* (L.) (même technique que ponr la Pl. précédente). × 2000.

Fig. 51. *Ophryocystis mesnili*, schizonte en voie de division binaire (frottis).

Fig. 52. id., schizonte à 4 noyanx.

Fig. 53. id., conpe d'nne portion de tnbe de Malpighi de *Tenebrio* infesté, montrant en *a, b, c, d, e, f, g* les divers stades de développement du parasite. *m* conpe de la paroi du tube de Malpighi.

Fig. 54. *Ophryocystis mesnili*, génération gamétogène; schizonte grégarinoïde à 2 noyaux. *c* cils de la bordnre en brosse. *m* paroi du tnbe de Malpighi.

Fig. 55. id., schizonte à un noyau en division.

Fig. 56. id., gamonte prêt à se détacher de l'épithélium pour s'accoupler.

Fig. 57. id., accouplement anormal de 3 gamontes.

Fig. 58. id., accouplement normal.

Fig. 59. id., couple au débnt de la division dn noyau.

Fig. 60. id., première mitose.

Fig. 61. id., fin de la première mitose.

Fig. 62. id., stade à 2 noyaux en voie de reconstitution.

Fig. 63. id., stade à 2 noyaux à gros karyosome.

Fig. 64. id., mitose de rédnction du noyau sexuel. *ns* noyau somatique.

Fig. 65. id., stade à 3 noyanx. *ns* noyau somatique.

Fig. 66. id., condensation dn cytoplasme sexuel autour dn noyau sexuel réduit. *ng* pour la formation des gamètes. *ng* noyau sexnel rédnit. *ns* noyau somatique *nr* noyau de réduction.

Fig. 67. id., un gamète *g* est formé dans chaque conjoint. (*nr, ns* comme pour la fig. précédente.)

Fig. 68. id., copnlation des 2 gamètes. (*nr, ns* comme pour la fig. 66.)

Fig. 69. id., copula à pronucleus encore distincts.

Fig. 70. id., copnla au stade sphérique après fusion des noyaux.

Fig. 71. id., copnla devenue biconique (sporocyste) avec une mince paroi.

Fig. 72. id., première division dn noyau du sporocyste.

Fig. 73. id., sporocyste au débnt dn stade à 2 noyaux.

Fig. 74. id., sporocyste an stade à 4 noyaux. La double paroi commence à se distinguer.

Fig. 75. id., sporocyste mûr avec ses 8 sporozoïtes et encore enveloppé par les débris somatiqnes des gamontes.

Fig. 76. id., couple à sporulation parthénogénétique. Le gamonte inférieur, en retard sur le snpérieur, n'a pas encore formé son sporocyste.

Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen.

II. Schizocystis sipunculi nov. sp.

Von

V. Dogiel (St. Petersburg).

(Hierzu Tafel IX.)

Diese interessante Form wurde von mir in dem Darm von *Sipunculus nudus* während meines Aufenthaltes auf der Zoologischen Station zu Neapel im Sommer 1905 gefunden.

Schizocystis sipunculi, die auf den ersten Blick an eine *Monocystis* erinnert, unterscheidet sich von der letzteren durch das Vorhandensein der Schizogonie, welche manche interessante Vorgänge bietet.

Methoden der Untersuchung.

Leider hatte ich fast keine Gelegenheit das Material intra vitam zu untersuchen, weil ich damals mit einer anderen Arbeit beschäftigt war. Ich konnte nur die Art der Bewegung von *Schizocystis* mehrere Male verfolgen und einige in toto-Präparate dieser Gregarinen anfertigen. Sonst dienten mir als Material für die vorliegende Arbeit die samt den Gregarinen fixierten Stücke des Sipunculusdarmes. Als Fixierungsmittel wurden das Flemming'sche Gemisch (schwache Lösung) und Sublimat mit 5 Proz. Essigsäure gebraucht. Dementsprechend gebrauchte ich für die Färbung der aus den Darmstücken angefertigten Schnitte Saffranin mit Lichtgrün, oder Heidenhain'sches Hämatoxylin mit Eisenbeizung. Die Schnittdicke betrug 5 μ.

Bei Coccidiida ist die Schizogonie schon ausführlich verfolgt; dabei hat sich gezeigt, daß im Gegensatz zu dem geschlechtlichen Vermehrungsmodus (propagative Vermehrung), der zur Infektion anderer Individuen des Wirtstieres dient, die Schizogonie (multiplikative Vermehrung) die Verstärkung der Autoinfektion bedingt. Was die Gregarinida beträgt, so war bei ihnen fast bis in die letzte Zeit keine Schizogonie bekannt. Die ersten Winke auf diesem Gebiete stammen erst vom Jahre 1898. In diesem Jahre entdeckten Caullery et Mesnil (2) im Darmepithel der Annelide *Dodecaceria concharum* [Oesrt.] gewisse einkernige Gebilde, die gleich den Coccidien nach einer mehrfachen Kernteilung innerhalb der Epithelzellen in ein Häufchen von 6—8 sichelförmigen Körperchen zerfielen. Die Abwesenheit irgendwelcher weiteren Entwicklungsstadien dieser coccidienartigen Organismen im Dodecaceriadarm brachte die französischen Gelehrten zu dem Schlusse, sie mit dem Entwicklungszyklus einer Gregarine, *Gonospora longissima* [Caull. et Mesn.], die im Cölom von *Dodecaceria* parasitiert, in Zusammenhang zu stellen. Caullery et Mesnil schreiben (2): „Nous concluons donc que les sporozoïtes des spores de Gonospora, mis en liberté dans le tube digestif de l'annélide, pénètrent dans une cellule épithéliale de l'intestin et s'y transforment par croissance et division cellulaires en un ensemble de nouveaux sporozoïtes groupés en barillet. Ces processus constituent une phase de multiplication asporulée ou endogène, étendant l'infection dans l'intérieur d'un même hôte.“ Nach der Meinung der erwähnten Forscher dringen die sichelförmigen Sporozoiten in die Leibeshöhle der Anneliden und werden dort zu erwachsenen *Gonospora*. Solch eine alleinstehende und nicht genügend verfolgte Tatsache bedurfte jedoch weiterer Bestätigungen.

Im Jahre 1900 haben erst Léger et Hagenmüller (4), dann Léger allein (6) die Schizogonie bei einigen anderen Gregarinen gefunden. Von ihnen wurde erstens festgestellt, daß *Ophryocystis* [Ai. Schn.], der einzige Vertreter der von Aimé Schneider aufgestellten Ordnung Amoebosporidia, zu den echten Gregarinida gehört. Dieser Befund bewies, daß die Schizogonie, welche bei *Ophryocystis* von Aimé Schneider entdeckt und von Léger et Hagenmüller bestätigt wurde, bei den Gregarinida vorkommt. In einer anderen Arbeit macht Léger (6) eine Mitteilung über eine neue interessante Gregarinengattung, *Schizocystis gregarinoides* Lég., aus dem Darm von *Ceratopogon* sp. Bei erwachsenen, *Monocystis*-ähnlichen *Schizocystis* werden durch wiederholte Teilung des Kerns etwa 60 Tochterkerne gebildet; später zerfällt auch das ganze Tier in ebensoviele kleine

keulenförmige Körperchen. Diese keulenförmigen Merozoïten konjugieren paarweise und umgeben sich mit einer gemeinsamen Cyste. Innerhalb der letzteren bildet jeder Konjugant Sporoblasten, die später kopulieren; als Produkt der Kopulation entstehen endlich Sporocysten mit je 8 Sporozoiten. Auf Grund seiner Untersuchungen über *Ophryocystis* und *Schizocystis* schlägt Léger vor, die Ordnung Gregerinida in zwei Unterordnungen einzuteilen: Eugregarinae und Schizogregarinae, von denen die letzteren durch das Vorhandensein einer ungeschlechtlichen Vermehrungsart charakterisiert werden. Endlich in einer kurzen im Jahre 1901 erschienenen Notiz erwähnen Caullery et Mesnil (3) eine asexuelle Vermehrung bei *Selenidium* sp. (aus *Scolelepis fuliginosa*); der Prozeß geht in ebensolcher Weise vor sich wie bei der obenerwähnten *Gonospora longissima.* Damit sind unsere mangelhaften Kenntnisse über die Schizogonie der Gregarinida erschöpft.

Eigene Beobachtungen.

Bei der äußerlichen Betrachtung des Sipunculusdarmes fällt sogleich auf der einen Seite desselben eine rote Linie auf, welche beim Munde beginnt und längs des Darmes bis zum Blindfortsatz sich hinzieht. Dieser Linie entspricht auf der Innenseite des Darmes eine tiefe Rinne (Fig. 1), die zwischen zwei Längswülsten des Darmes liegt. Die Wülste sind von einer Verdickung des Darmbindegewebes gebildet. Bei den von *Schizocystis* infizierten Tieren sieht man schon mit unbewaffnetem Auge in dem zum After hinaufsteigenden Darmschenkel kleine milchweiße Hügelchen oder Vorwölbungen, die in dichtgedrängten Gruppen an der roten Längslinie sitzen (Fig. 2). Wenn man eine solche Vorwölbung mit Hilfe zweier Nadeln auf dem Objektträger zerreißt, so schnellt aus derselben eine Menge kleiner, wurmförmiger *Schizocystis* hervor. Die Vorwölbungen bergen, wie es sich erweist, ganze aus mehreren Tausend von Gregarinen bestehende Kolonien in sich. Das Verhalten der *Schizocystis*-Kolonien zum Darme läßt sich am besten auf Querschnitten erklären (Fig. 1). Auf denselben ist leicht zu bemerken, daß die Hohlräume der Vorwölbungen, in welchen die *Schizocystis* sich befinden, eine unmittelbare Fortsetzung des Darmlumens vorstellen; der Darm wird an solchen Stellen einfach in die Leibeshöhle ausgestülpt. Die Ausstülpung des Darmes hat das Aussehen eines breiten Kanals, welcher sich an seinem blinden Ende zu einer Rosette taschenförmiger Säckchen erweitert. Es sind gerade diese mit Gregarinen angefüllten Taschen,

die hier und da als milchweiße Höcker an der roten Längslinie durchscheinen. Da, wo sich die Ausstülpungen bilden, wird von ihnen das gesamte Darmbindegewebe verdrängt, so daß die Gregarinen von der Leibeshöhle nur durch die Darmepithelschicht und durch das zarte Coelothelium getrennt bleiben. In dem inneren Hohlraume jeder Vorwölbung sind die Gregarinen rosettenförmig angeordnet: sie sind mit ihren vorderen Enden gegen die Wand der Vorwölbung gerichtet, indem sie von deren Zentrum, wo ihre kernlosen hinteren Enden liegen, radial ausstrahlen. Eine solche Lage ist dadurch zu erklären, daß sich jede Gregarine mit ihrem vorderen zugespitzten Ende an das Darmepithel anhaftet. Was die Größe der *Schizocystis* betrifft, so variiert sie in hohem Grade: in einer und derselben Vorwölbung sind Exemplare sowohl von 30—40 μ als auch von 130 bis 150 μ Länge anzutreffen, doch bilden in jeder Ausstülpung erwachsene Gregarinen von annähernd egaler Größe die Hauptzahl. Letztere nehmen fast den ganzen Innenraum der Ausstülpung ein; kleine Individuen befinden sich meistens an der Peripherie der Ausstülpung, in unmittelbarer Nähe des Darmepithels.

I. Erwachsene Schizonten.

Die Gestalt der *Schizocystis* ist wurmförmig, so daß sie, wie schon Léger (6, S. 868) bemerkte, den typischen *Monocystis* sehr ähnlich aussieht (Fig. 3—5). Ihre Bewegungen bestehen aus einem ziemlich behenden Hin- und Herbeugen des Körpers, welcher dabei manchmal sehr stark geknickt wird. Die Gregarinen haften sich oft mit ihrem hinteren Ende an den Objektträger an und drehen sich dann um den so entstandenen Stützpunkt herum. Außerdem ist bei *Schizocystis* eine ziemlich stark entwickelte Metabolie zu bemerken; so zum Beispiel kann ihr Vorderende entweder keulenförmig abgestumpft oder zu einer Spitze ausgezogen erscheinen. Das hintere Körperende ist abgerundet, das vordere geht in die obenerwähnte Spitze über, die ich als Rostrum bezeichnen werde. Dieses letztere besteht nur aus Ektoplasma und dient zum Eindringen in die Darmepithelzellen, zugleich vielleicht auch zur energischen osmotischen Nahrungsaufnahme. Es sind nämlich im Rostrum sehr oft Anhäufungen von kleinen Körnern zu finden, die sich sehr intensiv mit Eisenhämatoxylin färben und von der Osmiumsäure braunschwarz tingiert werden; aller Wahrscheinlichkeit nach haben wir es hier mit Reservestoffen zu tun, welche auf Kosten der aus den Epithel-

zellen ausgesaugten Nahrung gebildet und später in den hinteren Abschnitt des Schizocystiskörpers übergeführt werden. Wenn man eine *Schizocystis* in das Blut von *Sipunculus* bringt, so dringt sie sehr rasch mit ihrem Rostrum in eine der herumflottierenden rundlichen Blutzellen ein (Fig. 9). Das Rostrum wird dabei tief in das Innere des Blutkörperchens hineingebohrt; bald erscheinen in dem letzteren geräumige Aushöhlungen oder Kavernen, die als ein sicheres Kennzeichen dafür dienen können, daß ein gewisser Teil des plasmatischen Blutkörpercheninhalts durch die Gregarine mittels ihres Rostrums absorbiert ist. Es ist leicht zu vermuten, daß das Rostrum in derselben Weise sich auch gegen die Darmepithelzellen verhält. Und in der Tat sind als Folgen der von *Schizocystis* verursachten Beschädigungen im Darmepithel der Ausstülpungen starke Veränderungen zu konstatieren. Die Wimpern samt den Basalköpernchen verschwinden gänzlich, die Kerne verlieren ihre ausgestreckte, längliche Gestalt und werden mehr oder weniger abgerundet; ihre regelmäßige einander parallele Lage wird auch eingebüßt. Was die Zellen selbst anbetrifft, so verkürzen sie sich beträchtlich, was teils durch die Vernichtung des ins Lumen der Ausstülpung gerichteten Endes der Zelle, teils durch die Abplattung der Zellen bedingt wird infolge des Druckes, welchen die Gregarinenkolonien auf sie ausüben.

Der Körper von *Schizocystis* ist mit einer dünnen Pellicula bedeckt. Mehrere Längsfurchen ziehen sich, ziemlich dicht nebeneinander, vom Rostrum bis zu dem hinteren Ende des Tieres. Diese Längsfurchen spielen, wie wir weiter sehen werden, eine gewisse Rolle in den Prozessen der Schizogonie. Das Ektoplasma ist nur im Rostrum sichtbar, im übrigen Körper liegt unter der äußeren Pellicula unmittelbar das körnige Entoplasma. Auf den Schnitten hat das Entoplasma eine grobwabige Struktur. In ihm sind zahlreiche runde, stark glänzende Körner von verschiedener Größe zerstreut; sie werden von Osmiumsäure braun-schwarz tingiert, durch Eisenhämatoxylin färben sie sich tief-schwarz. Diese Körner sind als Reservestoffe zu betrachten. Sie fehlen gänzlich nur in der Nähe des Kerns, welcher von einem hellen Plasmahofe umgeben ist. Der Kern (Fig. 10) ist selten rund, sondern meistens oval und in der Richtung der Längsachse des Körpers etwas ausgezogen. Am häufigsten ist er dem Vorderende der *Schizocystis* genähert. Der Kern ist von einer deutlichen Membran begrenzt und besitzt ein großes, kugelförmiges Karyosom. Das letztere besteht aus einer peripherischen Chromatinschicht, die von der einen Seite stark verdickt ist, und aus einer inneren Höhlung, welche von einer achromatischen Substanz angefüllt ist.

Chromatin und Achromatin sind scharf voneinander geschieden. Allen Kennzeichen nach ist die achromatische Substanz viel flüssiger, als die sie begrenzende Chromatinschicht. Das stets exzentrisch liegende Karyosom ist mit seinem chromatinreichen Pol der Kernmembran stark genähert. An seinem entgegengesetzten Pole, der dem Kernzentrum zugewandt ist, wird die periphere chromatische Schicht äußerst dünn und, wie an Schnitten zu sehen ist, scheint auf einer gewissen Strecke völlig zu fehlen (Fig. 10). Auf dieser Strecke steht also der achromatische Karyosomstoff im direkten Zusammenhange mit dem Kernsaft. Der ganze Kern ist von einem zarten Lininnetz durchsetzt. In dem Liningeflecht sind hier und da etwas dunkler sich färbende, dickere Fäden zu beobachten, die sich innerhalb des Kerns vielfach winden (Fig. 10 d—e). Den Verlauf der meisten Fäden kann man dicht bis zum Karyosom verfolgen, gerade nämlich bis zu dem Punkte, wo die chromatische Karyosomschicht am dünnsten ist. An der Oberfläche des Karyosoms schmelzen die Fäden zusammen. Welche Bedeutung diese Fäden haben, kann ich nicht mit Sicherheit feststellen; manchmal schien mir, als ob sie unmittelbar aus dem Karyosominnern in das Kerninnere übertraten.

Auf weitere Ausführlichkeiten werde ich nicht eingehen, weil sie der verhältnismäßig großen Schnittdicke (5 μ) wegen nicht mit voller Bestimmtheit festgestellt werden konnten; ihr weiteres Studium verschiebe ich bis auf die Zeit, wo ich im Besitze eines reicheren Materials sein werde.

II. Schizogonie.

Unter Tausenden von erwachsen *Schizocystis* sind an manchen Stellen einzelne Exemplare anzutreffen, die sich auf verschiedenen Stadien der Schizogonie befinden. Ihre Zahl ist eine sehr geringe: in den 10—12 Kolonien, die mir zur Verfügung standen, habe ich nur 18 solche Individuen gefunden (vielleicht war die Jahreszeit ungünstig gewählt? das Material wurde in den Monaten Mai und Juni gesammelt). Solche Exemplare haben keine bestimmte Lage innerhalb der Kolonien: manche liegen im Zentrum der Kolonie, andere an der Peripherie der Darmausstülpungen. Die Körperform von *Schizocystis* wird während der Schizogonie stark verändert. Erstens werden im Körper zwei Hälften, die vordere und die hintere differenziert und voneinander abgegrenzt. Die vordere Hälfte ändert sich viel weniger, als die hintere, welche allein zur Bildung der Merozoiten dient.

Das Rostrum verkürzt und verdickt sich etwas, bleibt jedoch ganz gut unterscheidbar (Fig. 13); im Rostrum befinden sich manchmal einige stark mit Eisenhämatoxylin sich färbende körnige Klumpen. Die weiter folgende vordere Körperhälfte ist stark aufgetrieben und durch eine seichte Einschnürung von der hinteren ebenso angeschwollenen Körperhälfte getrennt. Das Protoplasma der vorderen Körperhälfte hat einen sehr groben, lockeren, wabigen Bau; dabei ist zu bemerken, daß sämtliche Reservestoffe aus dem Plasma verschwunden sind. Die hintere Körperhälfte ist vollkommen von den sich bildenden Merozoiten angefüllt.

Die ersten Entwicklungsstadien, welche der Merozoitenbildung vorangehen, habe ich nicht angetroffen, so daß ich nicht sagen kann, welche Prozesse dabei im Kern von *Schizocystis* vor sich gehen, und über dieselben nur nach einigen indirekten Angaben urteilen kann. Auf den frühesten mir bekannten Stadien (Fig. 11) sieht man in dem stark gelockerten Protoplasma der hinteren Körperhälfte zahlreiche kleine Kerne. Jeder Kern besteht aus einem zentralen Chromatinklumpen, welcher in einer hellen Höhle gelagert ist; diese letztere ist scheinbar von einer Kernmembran begrenzt. Um die Kerne herum beginnen sich kleine Protoplasmabezirke zu differenzieren. Das die Kerne umgebende Plasma beginnt allmählich sich zu kondensieren, worauf wir nach seiner stärkeren Färbung und nach der weniger lockeren Struktur schließen können. Auf diesem Stadium beobachtete ich im vorderen Körperende der Gregarine den noch erhalten gebliebenen großen Kern des Mutterschizonts (Fig. 12). Der Kern war von einer deutlichen und ununterbrochenen Kernmembran begrenzt, unterschied sich jedoch von den normalen Kernen durch völlige Abwesenheit des Karyosoms oder überhaupt irgendwelcher chromatischen Substanz. Diese Tatsache nötigt uns vorauszusetzen, daß bei der Bildung der Tochterkerne der Mutterkern, als ganzes, keinen Anteil nimmt; seine chromatische Substanz allein verläßt ihn und dient zur Ausbildung der Merozoitenkerne. Die Abwesenheit des Karyosoms in dem erhalten gebliebenen Mutterkerne weist darauf hin, daß das Karyosom wahrscheinlich bei der Bildung der Tochterkerne eine gewisse Rolle spielt, anstatt sich einfach langsam zu resorbieren, wie das bei vielen Gregarinen beobachtet worden war (Siedlecki, Cuénot).

Auf dem nächsten Stadium sondert sich um jeden Tochterkern das Plasma noch deutlicher ab, so daß man schon, wenn auch noch nicht scharf, die Konturen der sich bildenden Merozoiten erkennen kann. Zu dieser Zeit verdichtet sich die peripherische Plasmaschicht

der hinteren Körperhälfte, indem sie sich von der übrigen zentralen Plasmamasse absondert. Die Kerne der künftigen Merozoiten liegen in dieser letzteren peripherisch, der Körperoberfläche genähert. Ein Teil der Kerne liegt auch in der Ebene der Einschnürung, welche den Übergang der vorderen Körperhälfte in die hintere markiert. Die weitere Differenzierung der Merozoiten geht vom Zentrum der hinteren Körperhälfte zu ihrer Peripherie hin. Anfangs sondern sich die hinteren Enden der Merozoiten, welche dem Zentrum zugewandt sind, ab; infolge der dabei fortschreitenden Kondensation des Plasmas der Merozoiten wird im Zentrum der hinteren Hälfte des Schizonts eine Höhle gebildet. Später differenzieren sich auch die vorderen Enden der Merozoiten, welche bis dahin noch mit der peripherischen Plasmaschicht des Mutterschizonts in Verbindung standen. Nach erfolgter vollkommener Trennung befinden sich die Merozoiten, in der Art von einer Rosette gelagert, innerhalb einer Höhle, welche während und infolge ihrer Bildung in der kugelförmig aufgetriebenen hinteren Körperhälfte der Muttergregarine entstand (Fig. 14). Die Wände der inneren Höhle des Mutterschizonts sind ganz glatt und scharf konturiert. Auf diesem Stadium schon habe ich in der vorderen Hälfte der Gregarine keine Spuren des Mutterkerns mehr gefunden, oder es blieb davon nur eine Höhle im Protoplasma mit den Überresten der Kernmembran (Fig. 14). Nach der Bildung der Merozoiten kommt die Höhle der Muttergregarine mit der Außenwelt in Verbindung. Dieses geschieht in der Weise, daß der Körper von *Schizocystis* an seinem hinteren Ende, nach der Richtung der Längsfurchen, gewissermaßen wie eine in mehrere Stücke meridional aufgeschnittene Apfelsine sich öffnet. Es ist zu betonen, daß die Öffnung entschieden nicht durch einen unregelmäßigen Riß der Körperwand, sondern durch ein terminales Auseinandergehen der protoplasmatischen Bänder entsteht, welche voneinander durch die Längsfurchen abgegrenzt sind. Das Auseinandergehen wird augenscheinlich durch den Druck, welchen die im Schizont eingeschlossenen Merozoiten auf seine Wände ausüben, bedingt, wobei der Mutterschizont an den Stellen des minderen Widerstandes, wo seine Wände am dünnsten sind, d. h. längs der Längsfurchen, sich zerspaltet. Die auseinandergetretenen plasmatischen Bänder bilden um die Ausgangsöffnung zierliche Festons. Nachdem die Öffnung in der oben erwähnten Weise entstanden ist, beginnen die Merozoiten aus dem Mutterschizont in die Höhle der Darmausstülpung auszuwandern (Fig. 16). Die Zahl der in einem Schizont gebildeten Merozoiten beträgt bis 200 und mehr. Nach ihrem Ausschlüpfen be-

geben sich die Merozoiten zu der Epithelialwand der Darmausstülpung, um dort mit ihrem Rostrum in eine Epithelzelle sich einzubohren. Dadurch wird die Tatsache aufgeklärt, daß man manchmal in den Ausstülpungen, welche von erwachsenen *Schizocystis* von annähernd einer und derselben Größe erfüllt sind, an der Peripherie einige Gruppen von kleinen Gregarinen antrifft: es sind dies Merozoiten, die durch eine unlängst erfolgte Schizogonie entstanden sind.

III. Merozoiten.

Der Körper der Merozoiten ist verhältnismäßig dicker, aber kürzer als der der Schizonten, sein Vorderende ist keulenförmig aufgetrieben und ein Rostrum ist nicht zu sehen. Wenn man jedoch die Fähigkeit der *Schizocystis* zur Metabolie berücksichtigt, so kommt man leicht auf den Gedanken, daß das Rostrum während des Aufenthalts der Merozoiten innerhalb des Mutterschizonts etwas in ihr Vorderende hineingezogen sein kann. Ich bin auch dieser Meinung, weil schon die kleinsten *Schizocystis*, welche der Größe nach den Merozoiten ganz nahe stehen, aber schon das Mutterschizont verlassen haben, ein deutliches Rostrum aufweisen (Fig. 16). Längsfurchen konnte ich bei den Merozoiten nicht entdecken. Im Gegensatz zum lockeren, reservestofffreien Protoplasma der Muttergregarine, welches, ohne zur Bildung der Merozoiten gebraucht zu werden, zurückbleibt, ist das Merozoitenplasma viel dichter, feinwabiger und leichter färbbar, indem es stark das Eisenhämatoxylin anzieht (Fig. 13, 14, 16). Am stärksten färbt sich das Hinterende der Merozoiten. Die Intensität der Färbung wird hauptsächlich durch die bedeutende Protoplasmakondensation bedingt; in dem hinteren Ende der Merozoiten sind jedoch auch besondere sich mit Eisenhämatoxylin leicht schwarzfärbende Körneranhäufungen zu finden.

Das Verschwinden der Reservestoffe im Plasma des Mutterschizonts, sowie die starke Färbung und die Erscheinung der Körneranhäufungen in den Merozoiten weisen darauf hin, daß sämtliche Nahrungsstoffe, welche in dem Mutterschizont vorhanden waren, zur Bildung der Merozoiten verbraucht worden sind. Der Kern liegt im vorderen, verdickten Ende des Merozoits (bei dem Schizont ist er etwas mehr nach hinten verschoben). Das gesamte Chromatin liegt in einer ziemlich geräumigen Höhle, welche von außen scheinbar durch eine Kernmembran begrenzt ist (Fig. 15). In der Kernhöhle kann man außer dem zentralen Chromatinbrocken keine Formelemente

unterscheiden, und mir liegt sogar der Gedanke nahe, daß die Höhle selbst als ein Artefakt bei der Fixierung entstehen konnte; es ließe sich dann so erklären, daß der ganze Inhalt des Kernes von der Kernmembran sich zu seinem Zentrum zusammengezogen hat, hinter sich eine geräumige Höhle lassend. In der Mitte der Kernhöhle liegt eine längliche Masse, die deutlich aus zwei verschieden sich färbenden Teilen besteht (Fig. 15). Der größere Teil der Masse tingiert sich verhältnismäßig schwach; der kleinere Teil aber, welcher auf Art einer halbkugeligen Kappe dem größeren aufsitzt, besteht aus einem sehr stark färbbaren Stoffe. Wie die Form der Kappe, so zeigt auch ihr Verhalten gegen verschiedene Farbstoffe, daß sie dem Karyosom der erwachsenen Schizonten entspricht.

Zwischen den Merozoiten und den kleinen *Schizocystis*, die schon an dem Darmepithel haften, existiert eine ganze Reihe von Übergangsstufen.

Im allgemeinen ist also die Entstehungsart der *Schizocystis* kolonien folgenderweise sich vorzustellen. Eine einzige oder mehrere *Schizocystis* (ob das von erwachsenen Schizonten, oder von soeben aus den Sporocysten ausgeschlüpften Sporozoiten vollbracht wird, bleibt uns unbekannt) dringen in die Längsrinne des Sipunculusdarmes ein und haften sich an das Epithel des Rinnenbodens, welcher gegen die Leibeshöhle des *Sipunculus* gerichtet ist, fest. Hier vermehren sich die Gregarinen durch Schizogonie, wobei die neuentstandenen Schizonten an derselben Stelle weiter anwachsen, wo der sie erzeugte Mutterschizont sich befand. So wird die Anlage der Kolonie gebildet. Bei deren weiterem Wachstum und Volumzunahme beginnt sie auf die Wände der Längsrinne einen Druck auszuüben. Natürlicherweise geben die Wände der letzteren an der Stelle des minderen Widerstandes nach, das ist an der dünneren Rinnenwand, welche der Sipunculusleibeshöhle zugekehrt ist, und nicht an den seitlichen, von den Darmwülsten begrenzten Wänden (Fig. 1). Infolgedessen werden die Gregarinenkolonien langsam in die Leibeshöhle des Wirtstieres vorgestülpt, wobei sie durch die Darmwand in Form von milchweißen Hügelchen oder Vorwölbungen durchschimmern.

Einen geschlechtlichen Vermehrungsmodus mit Konjugation und Sporocystenbildung, wie es Léger (6, S. 869) bei *Schizocystis gregarinoides* beobachtete, konnte ich nicht feststellen. Entweder war die Jahreszeit dafür ungünstig, oder das mangelhafte Material hat mir nicht erlaubt, diese Prozesse zu verfolgen.

IV. Allgemeine Bemerkungen.

In den bisher bekannten Fällen der Schizogonie bei Gregarinen kann der Schizont entweder in 6—12 sichelförmige Merozoiten zerfallen, die peripherisch um einen zentralen Restkörper gelagert sind (*Gonospora longissima* [Caull. et Mesn.], *Selenidium* sp.), oder er zerfällt restlos in 2—10 (*Ophryocystis schneideri* [Lég. et Haagenm.]) oder gar bis 60 (*Schizocystis gregarinoides* [Lég.]) Merozoiten. Bei *Schizocystis sipunculi* geschieht, wie wir das bereits gesehen haben, etwas ganz anderes. Die Merozoiten in der Zahl von 150—200 und mehr, werden innerhalb des Schizonten gebildet; sie entstehen auf Kosten nur der einen Körperabteilung des Schizonten, während der andere Teil desselben ungebraucht bleibt und noch einige Zeit den Mutterkern behält, welcher jedoch der chromatischen Substanz völlig entbehrt. Die Bedeutung des unverbraucht bleibenden Schizontenteils ist eine zweifache: erstens bildet er mit seinen festen Wänden für die in ihm eingeschlossenen Merozoiten eine Art von Schutzcyste, aus welcher die Merozoiten erst nach ihrer vollen Ausbildung herausgehen. Zweitens stellt der Schizont aller Wahrscheinlichkeit nach einen Nahrungsspeicher, gewissermaßen eine Amme vor, aus welcher die Nahrungsstoffe in die in seinem hinteren Ende sich differenzierenden Merozoiten übergehen. Die innere Höhle des Schizonten, in welcher die Merozoiten liegen, kann man mit einigem Rechte als eine Brutkammer bezeichnen. Obwohl ich es nicht mit voller Sicherheit behaupten kann, so schien es mir doch so, daß die Merozoiten nicht alle gleichzeitig, sondern nur allmählich den Schizont verlassen (das ließ sich daraus ersehen, daß in manchen Schizonten anstatt 200 nur 30—40 ausgebildete Merozoiten gefunden wurden) und daß die der Ausgangsöffnung näher gelegenen Merozoiten etwas größer als die übrigen, tiefer liegenden waren. Wenn dieses richtig ist, so finden in der Bruthöhle nicht nur die Bildung des Merozoiten, sondern auch die ersten Wachstumsstadien derselben statt.

Léger (4, XLI) bezeichnet die Schizogonie bei *Ophryocystis schneideri* als eine e n d o g e n e aus dem Grunde, weil sie innerhalb des Wirtstieres vor sich geht (die Sporogonie wird von ihm dagegen als „cycle exogène“ genannt); ich möchte die Schizogonie von *Schizocystis sipunculi* auch als eine e n d o g e n e bezeichnen, jedoch aus dem Grunde, aus welchem die Sporogonie der Myxosporidia endogen genannt wird; das heißt, weil die Merozoiten resp. Sporocysten innerhalb der Gregarine resp. Myxosporidie gebildet werden.

Nicht allein bei G r e g a r i n i d a, sondern überhaupt bei allen

Telosporidia finden wir nichts, was an die endogene Schizogonie von *Schizocystis sipunculi* erinnert. Etwas Ähnliches ist in der Sporogonie der Myxosporidia nnd der Mikrosporidia zu erblicken, doch kann man da anf einen wesentlichen Unterschied hindeuten: Erstens geht der Mutterorganismus, welcher bei Myxosporidien zahlreiche vegetative Kerne besitzt, bei ihnen nach der Sporocystenbildung nicht unter, sondern lebt weiter fort (obwohl auch bei ihnen bei der immer fortschreitenden Sporocystenbildung von dem Mutterorganismns nnr ein protoplasmatischer Wandbelag der Cyste bleibt, der Mutterorganismns also endlich zugrunde geht). Zweitens werden innerhalb des Myxosporidienkörpers keine nackten Merozoiten, die eine weitere Autoinfektion bedingen, sondern beschalte Sporocysten gebildet, welche ihrerseits zum Austreten nach außen und zur Infektion eines anderen Wirtstieres bestimmt sind.

Wenn man sich vorstellt, daß der Mutterschizont bei *Schizocystis* die Merozoitenbildung überlebt, so kann man den erwähnten Prozeß, d. h. die Differenzierung der Merozoiten in der Bruthöhle, mit der mnltiplen inneren Knospung mancher *Acineta* (*Tokophrya*, *Acineta*, *Trichophrya*, *Ophryodendron*) vergleichen. Bei den letzteren werden gleichfalls innerhalb des Körpers mehrere Keime gebildet, die durch eine spezielle Öffnung aus der Bruthöhle nach außen gelangen, um sich dort zu mutterähnlichen Organismen zu entwickeln. Nur die Art der Entstehung der Bruthöhle ist bei ihnen eine andere.

Znm Schluß ist zu bemerken, daß bei der Merozoitenbildung von *Schizocystis sipunculi* solch ein wesentlicher Teil des Mutterschizonts samt dem Mutterkern zugrunde geht, daß man diese Erscheinung mit einigem Rechte als den individuellen Tod bezeichnen könnte, indem man sie mit den entsprechenden Prozessen bei den mehrzelligen Organismen vergleichen dürfte: ebenso wie bei den letzteren nur ein beschränkter Zellenkomplex des ganzen Mutterindividuums znr Bildnng der Nachkommenschaft bestimmt ist, so wird auch bei *Schizocystis* nur ein gewisser kleiner Teil der Zelle zum selben Zweck gebraucht, während der größere Teil, welcher noch den Mutterkern und das äußere Ansehen des ganzen Tieres behält, zugrunde geht.

Literaturverzeichnis.

1) Caullery, M. et Mesnil, F.: Sur un Sporozoaire aberrant (*Siedleckia nov. gen.*). C. R. de la Soc. Biol. Paris, Année 50 1898 p. 1093—1095.

2) —: Sur une Grégarine cœlomique présentant, dans son cycle évolutif, une fase de multiplication asporulée. C. R. de la Soc. Biol. Paris, Année 50 1898 p. 65—68.

3) —: Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée chez les Grégarines. C. R. de la Soc. Biol. Paris, Année 53 1901 p. 84—87.
4) Léger, L. et Hagenmüller, P.: Sur la morphologie et l'évolution de *l'Ophryocystis schneideri nov. sp.* Arch. de Zool. Experimentale (3), T. 8 1900 p. XL—XLV, Fig. 1—2.
5) Léger, L.: La reproduction sexuée chez les *Ophryocystis*. C. R. de la Soc. Biol. Paris, Année 52 1900 p. 927—930.
6) —: Sur un nouveau Sporozoaire des larves de Diptères. C. R. de la Soc. Biol. Paris, Année 52 1900 p. 868—870.
7) Lühe, M.: Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Jena 1900.
8) Wasielewski: Sporozoenkunde. Jena 1896.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Querschnitt durch den Darm von *Sipunculus nudus* mit den Schizocystiskolonien. A = Ausstülpungen, in denen die Gregarinen sich befinden; Lr = Längsrinne des Darmes; Lw = Längswülste.

Fig. 2. Ein Stück des Darmes mit zwei Vorwölbungen, durch deren Wände die Gregarinen durchschimmern.

Fig. 3. Erwachsener Schizont.
Fig. 4. Desgl.
Fig. 5—7. Kleinere Schizocystisexemplare aus der Höhle der Darmesausstülpungen.
Fig. 8. Ein Merozoit, der sich noch innerhalb des Schizonts befand.
} Oc. 4, Obj. Seibert 4 mm.

Fig. 9. Das vordere Ende einer *Schizocystis*, die mit ihrem Rostrum sich in eine Blutzelle von *Sipunculus* eingebohrt hat. Oc. 4, Obj. Reichert, Hom. Imm. $^1/_{12}$.

Fig. 10. Die Kerne der erwachsenen Schizonten; a—c nach den Querschnitten, d—e nach den in toto-Präparaten. Oc. 4, Obj. Leitz, Öl-Imm. $^1/_{16}$.

Fig. 11. Schizont auf einem jüngeren Stadium der Schizogonie; K = der Mutterkern, u = die Tochterkerne.
Fig. 12. Desgl.; ein weiteres Stadium.
Fig. 13. Desgl.; R = Rostrum; Lf = Längsfurchen.
Fig. 14. Desgl.; ein weiteres Stadium; K = Kernreste; O = Ausgangsöffnung.
} Oc. 4, Obj. Reichert, Hom. Imm. $^1/_{12}$.

Fig. 15. Eine Gruppe von Merozoiten aus der Bruthöhle eines Mutterschizonts. C = Chromatinkappe. Oc. 4, Obj. Leitz, Öl-Imm. $^1/_{16}$.

Fig. 16. Das Ausschlüpfen der Merozoiten aus dem Mutterschizont. Oc. 4, Obj. Reichert, Hom. Imm. $^1/_{12}$.

Fig. 11—16 nach den Schnitten gezeichnet.

Einige Beobachtungen an *Vampyrella lateritia* Leidy.

Von

H. R. Hoogenraad (Rijswijk, Holland).

(Hierzu 10 Textfiguren.)

A. Material.

Im Frühjahr 1905 erhielt ich aus dem Botanischen Garten der Universität in Amsterdam Material verschiedener Spirogyraarten, welches ich im Hinblick auf ein eventuelles Vorkommen von *Vampyrella lateritia* Leidy (= *V. spirogyrae* Cienkowski) in Untersuchung nahm. Anfangs gelang es mir nicht, auch nur ein einziges Exemplar des Tieres zu Gesicht zu bekommen; schließlich aber sah ich in einem Präparate Zellen von Spirogyra, welche eigentümliche Löcher in ihrer Zellwand aufwiesen, deren Entstehung ich auf die Tätigkeit von Vampyrella zurückführte. Alsbald entdeckte ich im nämlichen Präparate die Tiere selber, im ganzen sechs an der Zahl, und es gelang mir, die Identität derselben mit aller wünschenswerten Sicherheit festzustellen. Noch an demselben Tage hatte ich die Gelegenheit, die Nahrungsaufnahme dreimal wahrnehmen zu können, womit auch der letzte Zweifel an der Richtigkeit meiner Bestimmung verschwand.

Die Tiere waren im ganzen Material sehr selten. Seither habe ich niemals eine *Vampyrella* mehr gesehen, obwohl ich gelegentlich viele Präparate auf ihre Anwesenheit durchsuchte. Bei ihrer Seltenheit beobachtete ich die Tiere nur lebend, indem ich von Tinktionen und weiteren Präparationen Abstand nahm. Ich kultivierte sie im hängenden Tropfen in der gewöhnlichen Strasburger'schen

Kammer aus Pappe. Nach Verlauf einer Woche gingen sämtliche Tiere ein; der Absterbeprozeß schien mir ziemlich genau dem sog. „körnigen Zerfall" (Verworn) zu entsprechen; dies habe ich aber nicht näher verfolgt.

Obwohl nun folgende Ausführungen nicht viel Neues zur Kenntnis der *Vampyrella* hinzufügen, so schien es mir dennoch angemessen, im Hinblick auf die sehr sparsamen Literaturangaben über das Tier, meine Beobachtungen hier zu veröffentlichen. Sollte ich später imstande sein, sie zu ergänzen, so werde ich darüber an dieser Stelle näheren Bericht erstatten.

B. Morphologie.

Im Ruhezustand hat *Vampyrella lateritia* eine ziemlich regelmäßige homaxone Grundform; auch vollkommen frei sich bewegende Exemplare weisen diese Symmetrieform deutlich auf (Fig. 1). Dabei sind die Pseudopodien entweder zurückgezogen, oder ausgestreckt; ersteres ist gewöhnlich der Fall bei ruhenden, letzteres bei in Ortsveränderung begriffenen Tieren. Strahlen die Pseudopodien allseitig aus, was durchaus nicht immer geschieht, so ruft das Tier bei oberflächlicher Wahrnehmung einigermaßen den Eindruck eines zur Ordnung der *Aphrothoraca* gehörigen *Heliozoön* hervor; am meisten ähneln sie so kleinen Exemplaren von *Actinophrys sol.*

Meistens aber ist die Gestalt sehr unregelmäßig und der Plasmakörper stark amöboid veränderlich (Figg. 2—6). Wenn eine Vampyrella sich niedersetzt auf eine Spirogyrazelle, dann wird die Form durch Abplattung der der Alge zugewendeten Seite oft mehr oder weniger dreieckig: bei nachheriger Entfernung wird die Gestalt meistenteils wieder unregelmäßig, oder auch ziemlich genau elliptisch (Figg. 4—6). Nähert sich ein Exemplar gelegentlich dem Rande des hängenden Tropfens, dann verändert sich die Form in eine unregelmäßig-vieleckige. Infolge der geringeren Dicke des Tropfens an dieser Stelle plattet sich der Körper scheibenförmig ab und wird dadurch zugleich durchsichtiger, wodurch die Beobachtung der Körperbeschaffenheit, besonders der Vakuolen, erleichtert wird.

Es stellt sich dann heraus, daß der Körper nur mäßig vakuolär ist; die Vakuolen sind klein, wenig zahlreich und in der Nähe der Körperoberfläche befindlich, ragen indessen niemals über dieselbe hervor.

Pulsierende Vakuolen fehlen. Eine Einschließung der Nahrung in besondere sogen. Nahrungsvakuolen habe ich nicht konstatieren können, halte sie aber nicht für unmöglich.

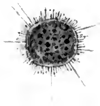


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

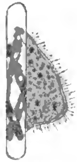


Fig. 4.

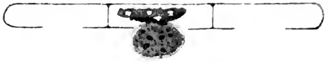


Fig. 5.

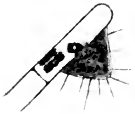


Fig. 6.

Lichtbrechende Körnchen sind in ziemlich großer Zahl vorhanden; ihre Größe ist gering.

Das Vorkommen eines Kerns habe ich sogar in den der Beobachtung günstigsten Fällen nicht bemerken können.

Besonders interessant ist die gewöhnlich sehr intensive Färbung des Protoplasmas. Dieselbe ist ein meistens lebhaftes Ziegelrot; worauf auch der Speziesname „*lateritia*“ (von later, lateris, Ziegel), hinweist, der Farbe einer Mohrrübe oder gewissen Arten von Mauersteinen ziemlich ähnlich. Je mehr sich das Tier der Kugelgestalt nähert, desto dunkler ist die Nuance; bei starker scheibenförmiger Abplattung erblaßt sie erheblich. Eine schmale Randzone des Plasmas ist gewöhnlich ganz oder fast ganz farblos, sogar bei im übrigen sehr dunkel gefärbten Tieren.

Es scheinen sich aber auch gelegentlich, obwohl selten, Exemplare zu finden, denen die ziegelrote Färbung ganz und gar abgeht; ich habe wenigstens einmal ein solches gesehen, welches einen schwach-grünlichen Farbenton besaß und einige große, dunkelgrüne, fast schwarze Körper einschloß, deren Natur und Herkunft mir unbekannt geblieben sind.

Schon die Untersuchungen von Cienkowski (1865, 1876), dem Entdecker der *Vampyrella*, führten diesen zu der Meinung, daß die eigentümliche Farbe verursacht wurde durch die von dem Tiere aufgenommene Nahrung. Und zwar scheint eine ziegel- oder orangerote Färbung aufzutreten, wenn die Tiere eine chlorophyllreiche Nahrung genießen, während hellere Nuancen, bzw. Farblosigkeit die Folge sind von einer vorwiegend aus Diatomeen bestehenden Nahrung.

West [1]) beschreibt die rote Farbe bei seinen Exemplaren, welche sich ernährten mit dem Zellinhalt einer Chlorophycee (*Mongeotia*), also mit Chlorophyll; während Cash [2]) von fast farblosen Individuen von *Vampyrella flabellata* Cash spricht, an denen wenig oder nichts von der für die *Vampyrellae* charakteristischen Färbung zu bemerken war. Über die Nahrung seiner Tiere scheint Cash nichts ermittelt zu haben; in seinen Figuren aber bildet er im Protoplasma eingeschlossen ein Körperchen ab, welches eine Diatomeenschale zu bedeuten scheint.

Endlich wird auch für die mit den *Vampyrellidae* verwandten Heliozoen das gelegentliche Vorkommen einer roten Farbe von ver-

[1]) Journ. of the Linnean Society, Zoology, Vol. XXVIII p. 333.
[2]) Journ. of the Linnean Society, Zoology, Vol. XXIX p. 224.

schiedenen Autoren (Schaudinn [3]), Penard [4])) mit Bestimmtheit den Zersetzungsprodukten des Chlorophylls zugeschrieben.

Ich komme nun zu den Pseudopodien, welche sowohl der Größe als der Form nach ziemlich variabel sind.

Es ist dabei in erster Linie zu unterscheiden zwischen den normalen, spitzigen, mehr oder weniger fadenförmigen, und den nur selten zu beobachtenden stumpfen, lappigen, amöbenartigen.

Die ersteren sind für gewöhnlich dünn, fein und fadenförmig; sie strahlen fast immer allseitig aus, sind aber nur in geringer Zahl anwesend (Figg. 1, 2 und 6). Ihre Länge kommt dem Körperdurchmesser nahezu gleich, übertrifft ihn aber gelegentlich etwa um die Hälfte, oder bleibt etwas unter demselben zurück. Während der Nahrungsaufnahme sind sie meistens eingezogen. Es kommt aber außerdem eine Form dieser spitzen Pseudopodien vor, welche viel kürzer und dicker sind und sehr dicht beieinander stehen, wodurch sie dem Körperrand ein gefranstes Aussehen geben (Figg. 1 und 4). Oft bedecken sie nur einen Teil der Körperoberfläche (Fig. 2), und sind vielfach am Ende oder nahe dem Ende kopfförmig verdickt. Ihre größte Eigentümlichkeit aber liegt darin, daß sie fortwährend verschwinden und wieder neugebildet werden. Sie können auch gäuzlich fehlen (Figg. 5, 6).

Nicht selten verbreitern sich die basalen Teile der Pseudopodien sehr stark, was zur Folge hat, daß die benachbarten Pseudopodien in ihrem unteren Dritteil etwa gänzlich zusammenfließen können. Es entsteht dann ein aus hyalinem Plasma gebildeter Körperanhang, in dem auch, obwohl sparsam, Körner auftreten können (Fig. 3).

Die Pseudopodien der zweiten Art erscheinen selten; ich hatte ihr Vorkommen nur ein einziges Mal zu beobachten Gelegenheit. Ein normales, sich frei bewegendes Exemplar hatte ein derartiges Pseudopodium nahezu eine Viertelstunde ausgestreckt. Es war stark amöboid veränderlich und vollkommen hyalin (Fig. 2).

Bisweilen zeigt sich auf den längeren Pseudopodien besonders schön die eigentümliche Erscheinung der Körnchenströmung, welche bei anderen Sarkodinen regelmäßiger beobachtet wird. Man sieht dabei die kleineren oder größeren Körner den Plasmakörper verlassen, mit ziemlich großer Geschwindigkeit dem Pseudopodium entlang gleiten, und an der Spitze desselben umkehren, um wieder

[3]) Heliozoa in: Das Tierreich, p. 8.

[4]) Les Héliozoaires d'eau douce, p. 30.

znm Körper zurückzuströmen. Oft ist das Phänomen sehr energisch, fehlt aber auch ganz; am intensivsten scheint es mir zu sein bei dunkelgefärbten, sich lebhaft bewegenden Tieren.

C. Ernährung.

Die Ernährung, die aktive Erbeutung des Nahrungsmateriales, ist sicher eine der interessantesten Lebenserscheinungen der *Vampyrella lateritia*. Das Tier nährt sich nämlich ausschließlich mit dem lebenden Zellinhalt von Chlorophyceen.

In der von mir studierten Kultur waren folgende Algen mehr oder weniger zahlreich vorhanden:

1. *Cyanophyceen* (vorwiegend *Nostoc*- und *Oscillaria*-Arten; auch einzellige Formen);
2. *Chlorophyceen* (*Spirogyra*- und *Zygnema*-Arten; außerdem einige andere, nicht näher bestimmte Spezies, wahrscheinlich *Mesocarpus*-Arten);
3. *Diatomeen* (kleinere Formen, in geringer Zahl).

Ohne Ausnahme ernährten sich meine Tiere mit dem Inhalt der Spirogyrazellen; niemals habe ich auch nur die geringsten Spuren der Aufnahme anderen Materiales beobachten können.

Der erste beobachtete Fall der Nahrungsaufnahme ist abgebildet in Fig. 5. Die Form der Vampyrella war genau elliptisch; das Tier liegt neben einem aus drei Zellen bestehenden Faden einer *Spirogyra*-Art, und zwar vor der mittelsten Zelle. Es ist in seiner Arbeit, den lebenden Inhalt der Zelle aufzunehmen, schon ziemlich weit vorgeschritten. Der bandförmige Chromatophor ist von der Innenwand der Zelle schon gänzlich zurückgezogen und im Begriff in den Körper des Tieres zu verschwinden. Auch der Protoplast wird erbeutet; ein kleiner Teil desselben ist an einem Ende des zu einem Knäuel zusammengeballten Chromatophoren zu sehen. Die beiden äußersten Zellen des Fadens zeigen in den großen Löchern in ihrer Zellwand die Spuren der früheren Tätigkeit einer *Vampyrella*, vielleicht des nämlichen Individuums; sie sind ganz leer.

Wenn eine *Vampyrella* sich einem Algenfaden anheftet, wird ihre Form gewöhnlich dreieckig (Figg. 4 und 6). Die kürzeren Pseudopodien sind während der Ernährung meistens ausgestreckt und in voller Aktion, d. h. sie verschwinden und entstehen wieder unaufhörlich (Fig. 4). Bisweilen aber sind sie zurückgezogen und

nur die längeren Pseudopodien vorgestreckt (Fig. 6); oder beide Arten sind verschwunden (Fig. 5). Bei kleineren Tieren bricht der Chromatophor während des Einsaugens wohl ab; ein Teil bleibt dann in der Zelle zurück (Fig. 6).

Merkwürdig erscheint der Umstand, daß, obwohl sich das lebhafte Grün des *Spirogyra*-Chromatophoren vom blaß-orangeroten des Vampyrellaprotoplasmas scharf genug abhebt, doch die grüne Farbe fast unmittelbar verschwindet, wenn der Chromatophor in den Körper des Tieres aufgenommen wird. Die Folge dieser Erscheinung ist, daß die *Vampyrella* niemals oder nur äußerst selten eine von der eingeschlossenen Nahrung herrührende grüne Färbung zeigt, wie dies bei anderen Protozoen so oft der Fall ist.

Bezüglich der Zeit, welche das Tier braucht um eine *Spirogyra*-zelle auszusaugen, bemerke ich, daß ich dieselbe ansehnlich kürzer gefunden habe, als West (l. c.) angibt. In nicht weniger als zwei Stunden, schreibt genannter Autor, war nur noch ein Teil des Chromatophoren und des umgebenden Protoplasmas absorbiert. Ich muß aber entschieden erklären, daß ich sogar die Aufnahme des ganzen Inhaltes einer Spirogyrazelle niemals länger als zwanzig Minuten habe dauern sehen; gewöhnlich war der Akt in nahezu einer Viertelstunde vollendet.

Eine eigentümliche, ebenfalls von West (l. c.) konstatierte Erscheinung konnte ich, trotzdem ich viel Mühe darauf verwendete, nicht beobachten. Es ist das nämlich eine durch die *Vampyrella* verursachte „heftig tanzende Bewegung der Granula des pflanzlichen Protoplasmas.“

D. Encystierung.

An drei Individuen war ich imstande, deutlich ausgesprochene Encystierungserscheinungen zu beobachten. In Übereinstimmung mit den Angaben von Hertwig und Lesser [1]) zeigte sich in allen drei Fällen nur eine einzige Cystenmembran. Zwei oder sogar drei solcher, wie dies Cienkowski angibt, sah ich keinenfalls; ebensowenig war die Encystierung mit einer Fortpflanzung verbunden. Überhaupt habe ich von irgendwelchen Vermehrungserscheinungen nichts ermitteln können.

Was nun zunächst die Form der Cyste anlangt, diese ist kugelförmig (Fig. 10), zusammengedrückt (Fig. 7), oder birnenförmig

[1]) Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. X, Supplementheft, 1874 p. 68.

(Fig. 9), in zwei Fällen (Figg. 7, 9) an einem Algenfaden befestigt Der Membran fehlen alle Stachelchen oder sonstige Unebenheiten. Das Tier selbst hat sich innerhalb der Cystenmembran zusammengezogen, und in dem dadurch zwischen Tier und Membran entstehenden Raum finden sich die eigentümlichen unverdanten Nahrungsreste, einmal in der Form orangeroter Körner (Fig. 7), ein anderes Mal, und zwar in der birnenförmigen Cyste als eine ebenso gefärbte zusammenhängende Masse im stumpferen Ende der Birne (Fig. 9). Im dritten Fall zeigten sich keine solchen Nahrungsreste (Fig. 10).

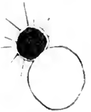
Die Form des Tieres innerhalb der Cyste ist ziemlich genau kugelförmig oder etwas elliptisch (Figg. 7, 9). Die Pseudopodien sind zurückgezogen; die Farbe ist dunkler und mehr karmiurot als in normalem, nicht encystiertem Zustande.


Fig. 7.


Fig. 8a.


Fig. 8b.


Fig. 9.


Fig. 10.

Das Verlassen der Cystenmembran habe ich leider nicht direkt beobachtet. Die Figuren 7 und 8 bilden indessen das nämliche Individuum ab, nnd zwar erstere Figur mittags 2 Uhr, letztere denselben Tag abends 7 Uhr. Das Tier der Figur 8 hat also die Membran vor kurzem verlassen. Es war schwach amöboid veränderlich, die Ortsbewegung außerordentlich langsam, die Farbe

karminrot mit einer farblosen Randzone. Nur die längeren Pseudopodien sind anwesend und zwar in geringer Zahl. Die Figur 10 bildet ein Tier ab, welches wahrscheinlich soeben aus der Cyste herausgeschlüpft ist; es gleicht demjenigen der Fig. 8, nur sind die Pseudopodien kürzer und zahlreicher.

E. Bewegung.

Zum Schluß ein paar Worte über die Bewegung. Dieselbe ist bei den nicht im Ruhezustande oder in der Nahrungsaufnahme begriffenen Individuen meistens eine für Sarkodinen auffallend schnelle. Sie gleiten dabei während kürzerer oder längerer Zeit in einer fast geraden Linie fort, stocken dann plötzlich, zögern eine Zeitlang, um schließlich eine ganz andere Richtung zu nehmen als vorher. Der Protoplasmakörper ist dabei ziemlich formbeständig; bisweilen indessen fließt er, infolge seiner halbflüssigen Konsistenz noch dem einen oder anderen Teil des Körpers lappenförmig aus.

April 1906.

Recherches biologiques sur deux Lieberkühnia.

Par
E. Penard (Genève).

(Avec 22 figures en texte.)

Le genre *Lieberkühnia*, créé en 1859 par Claparède et Lachmann, et dont les représentants se distinguent des *Gromia* par la possession d'un „pédoncule pseudopodique“, nous est connu par quatre espèces, *Lieberkühnia gracilis* Möbius, *L. bütschlii* Gruber, *L. wageneri* Clap. et Lachmann, et *L. paludosa* Cienkowsky; les deux premières sont marines, la troisième se trouve, paraît-il, dans l'eau douce comme dans l'eau salée, et la dernière appartient exclusivement à l'eau douce.

Nous n'avons que des renseignements très-insuffisants sur les deux premières de ces espèces; quant aux deux autres, elles sont un peu mieux connues, surtout la *L. wageneri*, qui, après la description plutôt sommaire de Claparède et Lachmann,[1] a donné lieu de la part de Siddall,[2] Maupas[3] et Verworn,[4] à d'intéressantes observations; moi-même en 1902 j'ai retrouvé cette espèce,[5] mais sous la forme d'un unique individu, dont je n'ai pu alors faire qu'une étude très-incomplète.

Il s'en faut cependant de beaucoup que nous soyons suffisamment renseignés sur ces deux rhizopodes, que plusieurs auteurs hésitent à considérer comme représentant deux espèces distinctes, la *Lieb. paludosa* n'étant peut-être d'après eux qu'un stade avancé de la

[1]) Mém. Inst. Genev., vol. 6 p. 465 pl. 23 1859.
[2]) Quart. Journ. micr. Sci., n. ser. vol. 20 p. 141 pl. 16 1862.
[3]) C. R. Acad. Sci., vol. 95 p. 191 1882.
[4]) Psycho-physiol. Protistenstud., p. 23 pl. 3 1889.
[5]) Faune rhizopodique Léman, p. 552 fig. 1—3 1902.

Lieb. wageneri. Mais ces auteurs se trompent; il y a là, bien certainement, deux espèces parfaitement autonomes, comme les pages actuelles ne pourront manquer de le montrer.

L'hiver dernier j'ai retrouvé ces deux organismes en abondance, cachés dans les tapis de mousses submergées qui remplissaient un des creux du marais de Bernex près de Genève; malgré la température fort basse de l'eau, qui pendant des semaines est restée couverte d'une couche de glace épaisse de 8 à 10 centimètres, ces rhizopodes se sont montrés toujours en parfaite santé, et il m'a été possible d'en faire une étude dont je voudrais exposer ici les résultats.

Lieberkühnia paludosa (Cienkowsky).[1]

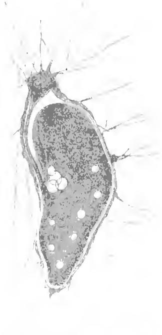


Fig. 1. *Lieberkühnia paludosa.* L'animal vu de côté; on distingue le raphé, des vésicules contractiles, dont quelques-unes à la base du raphé, et le plasma recouvrant l'enveloppe entière.

Ce rhizopode se rencontrait à Bernex sous deux formes nettement distinctes; la première, allongée et sacciforme, correspondait à celle qu'a examinée Cienkowsky, et quant à la seconde, sphérique ou subsphérique, et que personne, à ma connaissance, n'a signalée jusqu'ici, elle m'a pendant longtemps paru représenter une espèce autonome; mais, comme nous le verrons plus tard, il n'y a là qu'une *forme*, qu'il est impossible de séparer spécifiquement de la première.

Enveloppe.

Sous sa forme typique et allongée (fig. 1), la *Lieberkühnia paludosa*, extrêmement variable de taille, mais qui rarement reste inférieure à 200 μ, et rarement aussi dépasse une longueur de 475 μ, est lancéolée, ou pyriforme-allongée, ou presque vermiforme, généralement deux ou trois fois aussi longue que large, étirée et amincie à sa partie antérieure, très-variable d'ailleurs dans ses contours et ses proportions re-

[1]) *Gromia paludosa* (Cienk.). Arch. f. mikr. Anat., vol. 12 p. 32 pl. 6 1876.

latives; parfois sinueuse, creusée d'échancrures, ou bien lobée, renflée par places et évidée ailleurs, et à dessin alors tout-à-fait irrégulier.

Le corps proprement dit est revêtu d'une enveloppe incolore, de 2 μ d'épaisseur en général, mais qui dans certains cas peut arriver à 3 et 4 μ, souple et en même temps résistante, et moulée sur le plasma dont elle épouse toutes les déformations; ou plutôt, faudrait-il dire, c'est cette enveloppe elle-même qui, plastique, se déforme, s'étrangle et refoule le plasma. Ces déformations sont du reste extrêmement lentes, et il est rare qu'un individu examiné à plusieurs heures d'intervalle ait nettement changé d'apparence. L'enveloppe est en principe parfaitement lisse; mais bien souvent aussi, et surtout sur de vieux individus, on la voit recouverte de granulations ou fragments de toute sorte. paillettes minuscules ou bien carapaces d'algues ou de diatomées, solidement fixées à la surface. A sa partie antérieure, elle devient plus molle et plus fine, et s'étire, parfois en un véritable col, ou même en un tube plus ou moins bien dessiné, très-clair, toujours un peu déjeté sur le côté, est dont l'ouverture se voit dans la règle oblitérée par une sorte de tampon formé d'ectoplasme grisâtre et vacuolisé, d'où se dégagent les pseudopodes.

Sous la seconde forme dont nous avons parlé, la *Lieberkühnia paludosa* revêt une apparence toute différente: c'est une masse le plus souvent si parfaitement globuleuse (fig. 2) qu'on y chercherait en vain une distinction entre un grand et un petit axe, ou bien subsphérique, ou encore ovoïde; la taille, extrêmement variable, mesure le plus souvent de 150 à 250 μ; l'enveloppe, incolore, est relativement mince, et comme distendue par la masse du plasma; le contour en est régulier, et reste en apparence indéfiniment tel, sans qu'on y voie se produire de déformations. Rarement tout-à-fait lisse, cette membrane se montre plus souvent tout entière recouverte de fragments ou paillettes minuscules, qui parfois finissent par constituer un revêtement continu et rugueux. Dans la grande généralité des cas, il est impossible, même avec la plus forte attention, de distinguer rien qui ressemble à un étirement en collerette et encore moins à un tube buccal; on voit les pseudopodes se déployer largement d'une région antérieure, où l'on est forcé de supposer qu'il existe un orifice, mais cet orifice reste invisible, et l'on en est d'autant plus réduit aux conjectures pour expliquer la sortie des pseudopodes, qu'on ne distingue pas trace du pédoncule caractéristique que l'on aperçoit si nettement dans la forme allongée de cette même

espèce.[1]) Nous verrons plus tard qu'il existe cependant une bouche, aussi bien qu'un „raphé" ou „pédoncule pseudopodique", mais qui presque toujours restent l'un et l'autre invisibles.

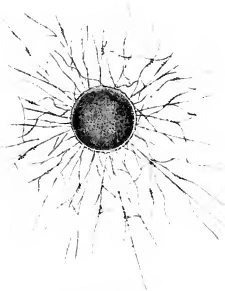


Fig. 2. *Lieberkühnia paludosa.*
Un exemplaire appartenant à la forme sphérique, et vu d'en haut, au milieu de ses pseudopodes. Sur ces derniers, on voit de petits amas de grains d'excrétion, qui ont été amenés de l'intérieur du plasma.

[1]) En réalité, ce n'est qu'après des semaines d'étude que j'ai pu me rendre compte de la structure réelle dans cette forme sphérique. Comme d'autre part cette forme spéciale était, dans ces premières semaines, presque seule représentée à Bernex, je l'ai longtemps considérée comme constituant un organisme à part, rentrant dans le genre *Gromia*, et qui peut-être même n'aurait été autre chose qu'une grande variété de la *Gromia terricola* de Leidy. Il n'est pas inutile à ce propos de remarquer que dans les deux Gromies sphériques que nous connaissons, *Gromia fluvialis* Duj. et *G. terricola* Leidy, aucun observateur n'a pu s'assurer d'une manière évidente de la présence d'une ouverture buccale. Après mes expériences de cette année, je ne serais pas éloigné d'expliquer ces résultats négatifs en disant que ces deux Gromies, *fluvialis* et *terricola*, ne sont pas en réalité des *Gromia*, mais bien des *Lieberkühnia*, chez lesquelles, comme dans la *Lieberkühnia paludosa* sphérique, la bouche est réduite à une fente presque toujours cachée à la vue, et le pédoncule pseudopodique à un ruban plus indistinct encore.

Plasma.

Dans l'une comme dans l'autre de ces deux formes de *Lieberkühnia*, le plasma qui remplit l'enveloppe est normalement jaunâtre, d'un jaune tirant sur le brnu, et d'une teiute plus ou moins foncée; examinés à la lumière incidente, sur un fond noir, les individus se montreront tantôt blaucs, tantôt d'un janne citron, tantôt même d'un beau rouge orangé, ou de cette couleur chaude qne les peintres appelleut le brnn-ronge, et entre ces différentes teintes tonte la gamme des nuances peut se reucontrer.

Cette coloratiou particulière est liée à la présence de grains sphériques, de moins de 1 μ de diamètre, qui vus un à un paraissent à peine jaunâtres, et qui par myriades fourmillent dans le plasma, parfois si nombrenx qu'ils en constituent la majeure partie de la masse, et alors cette coloration générale est d'autant plus chaude et foncée qne les grains sont plns abondants.

Qnelle est la signification de ces grains jaunâtres? Sans avoir pn sous ce rapport arriver à une conclnsion précise, je serais cependant porté à croire qu'il y a là eu quelque sorte nne réserve nutritive; et ce qui semblerait confirmer cette manière de voir, c'est que les animaux mis en observation et privés de nonrriture pâlissent peu à peu et perdent de plns en plus leurs grains jaunes, pour se remplir en revanche de corps cristalloïdes et vaguement bicnspides, incolores, de 5 à 6 μ de longueur, et qui paraissent être de la nature des grains d'excrétion.

Outre les granulations jaunes caractéristiques, et les grains d'excrétiou qui parfois manquent complétement et d'antres fois au contraire sont abondamment représentés, le plasma renferme, mais beaucoup plus rarement, des masses pâles, ovoïdes, dont la dimension pent arriver à 20 μ, quelquefois creusées dans leur intérieur de façon à ressembler à nn annean de chaîne (fig. 3), et dout la signification m'échappe. On trouve égalemeut, disséminés par ci par là et généralement en très-petit nombre, des éléments de provenance étrangère, soit, rarement, des diatomées, qui alors sont toujours de très faible dimension, soit plus souvent des petits globules verts, de 2, 3, 4 μ de diamètre, lesquels au premier abord feraient croire à uu phénomène de symbiose, mais qui, dépourvus de membrane, ue représentent probablement que des fragments de chromatophores arrachés à des algues. Ces corpnscnles verdâtres semblent, il faut le dire, pouvoir rester très-lougtemps dans l'intérieur du plasma sans être digérés.

Le plasma renferme enfiu des vacuoles, des vésicules contractiles, et un ou plusieurs uoyaux, sur lesquels nous reviendrons plus loin.

Toute cette masse plasmatique est, ici comme dans les autres représentants de la famille des *Gromia*, entraînée dans un mouvement de rotation analogue à celui que l'on observe par exemple dans les cellules des characées; et cette cyclose est très-variable d'intensité suivant l'instant ou l'individu. D'une manière générale, on pourrait dire que la rapidité de la rotation est directement proportionnelle à l'intensité de l'éclairage, à l'activité, à la bonne santé, à la jeunesse de l'individu lui-même; mais il y a là encore bien des points obscurs, et des facteurs multiples que nous ne connaissons pas; souvent on a peine à comprendre pourquoi la cyclose est presque nulle, ou même complétement arrêtée, sur tel ou tel individu, alors qu'elle est active dans d'autres animaux placés en apparence dans les mêmes conditions. En tout cas, dans les gros individus sphériques et orangés, à membrane forte, et qui semblent se trouver à l'état de repos ou même d'enkystement partiel, les mouvements rotatoires du plasma sont réduits à leur plus simple expression, et semblent parfois être complétement arrêtés.

Ectoplasme, pseudopodes, raphé, capture des proies.



Fig. 3. *Lieberkühnia paludosa.* Portion très-grossie, montrant le raphé, avec 3 vésicules contractiles à sa base; le plasma renferme un noyau, et deux gros corps pâles dont l'un est creusé en anneau.

Le plasma jaune est revêtu d'une couche très-mince, et en général peu apparente, de substance hyaline, ou ectoplasme, qui comme une enveloppe spéciale isole toute la masse jaunâtre de la paroi de l'enveloppe proprement dite. Dans une région particulière, ou plutôt sur un point particulier de cet ectoplasme, et en général vers le milieu de la longueur du corps, on voit prendre latéralement naissance une sorte de filet protoplasmique, qui passant entre le corps et l'enveloppe se dirige vers la partie antérieure, pour s'y déployer en trompette et accoler ses lèvres à celles de l'orifice de l'enveloppe (fig. 3). C'est là ce que l'on a appelé le „pédoncule pseudopodique"; mais dans les pages qui vont suivre, et en raison de la ressemblance que cette tigelle présente avec la cordelette que l'on remarque dans les ovules des végétaux phanérogames, j'appellerai cette tigelle le „raphé".

L'ectoplasme amené au dehors par le raphé s'accumule à la bouche de l'enveloppe propre, y forme un amas plus ou moins considérable de plasma grisâtre et presque toujours fortement vacuolisé, et de cet amas part un bouquet de pseudopodes qni s'élancent dans toutes les directions; en même temps, une partie, et non la plus faible, de cet amas d'ectoplasme bnccal, se répaud snr l'enveloppe qn'elle finit par couvrir tout entière, et alors, d'un point quelconque de cette couche plasmatique de recouvrement peuvent partir des pseudopodes, identiques à ceux du faisceau buccal; très-souvent les deux courants de plasma qni, partant de la bouche, ont rampé vers la partie postérieure, se rejoignent sur le fond de l'enveloppe, et y forment un amas secondaire, duquel partent, comme de la bouche, des faisceaux de psendopodes.

Le déployement des pseudopodes est assez capricieux; tantôt l'on trouve à la bouche un tronc primaire qui s'élancera fort loin, jnsqu'à une distance égale à 5 et 6 fois la longueur de l'individu, en émettant sur son parcours des ramifications nombreuses et plus ou moins serrées;[1]) tantôt ce sera un rayonnement général, au milieu duquel l'animal se verra comme une araignée dans sa toile. Toutes ces ramifications sont snsceptibles de former entre elles des anastomoses; mais quelquefois ces anastomoses seront nombreuses et serrées, d'autres fois l'on n'en verra que fort peu.

Les pseudopodes portent toujours à leur surface un nombre plus ou moins considérable de ces grains clairs, extrêmement petits, qni sont caractéristiques des rhizopodes réticulés, et c'est alors un spectacle intéressant que d'observer les courses folles auxquelles ces grains se livrent sur le filament qui les porte; ils avancent, reculent, se précipitent comme l'éclair, s'arrêtent, se croisent les uns les autres, arrivent à une bifurcation, s'y arrêtent comme indécis puis repartent sur une nouvelle branche, etc., vont et viennent enfin comme doués d'une volonté propre. Mais pourtant leur jeu n'est que passif; ce qui se meut, c'est la couche hyaline de plasma semi-liquide qni reconvre le pseudopode et entraine avec elle les granulations. Il n'y a d'ailleurs pas sur le pseudopode une couche, unique, homo-

[1]) Dans un cas particulier, j'ai vu un individu de 250 μ de longueur, isolé sous le convre-objet, émettre un seul gros psendopode, qui marchant droit devant lui se déploya „en balai“, ne donnant que des ramifications fines, très-peu nombreuses et très-rapprochées du tronc. Ce tronc principal devint alors toujours plns mince, et sa dernière pointe, si fine qu'on avait peine à la distinguer, arrivait à une distance de 5500 μ, autrement dit à plus de 20 fois la longueur de l'individu. Mais c'était là un cas exceptionnel, et normalement dans cette espèce les pseudopodes sont relativement plns courts que dans la *Lieberkühnia wageneri*.

gène, mais bien des conches. des courants superficiels comparables à ceux qui ponrraient se former sur une rivière, courants qui s'entre-croiseut, se rejoignent, pénétrent les uns daus les autres ou se fondent entre eux. Parfois cependant le courant est unique, et dans telle ou telle région concerne le pseudopode tout entier, et toute la masse alors avec les grains qui la revêtent se verra portée en avant; d'autres fois, surtout s'il snrvient qnelque cause de trouble, un coup sur la lamelle, on bieu au moment où commence à se prodnire l'effet d'nn réactif, tout revient d'un bloc en arrière. Bien souvent, snr un pseudopode normal et bien portant, on voit, snr telle on telle région de sa surface, les grains descendre snr l'un des côtés du filament, et monter de l'autre, ce qui a fait penser à qnelqnes observateurs qu'il y avait là un processus physiologique, une cyclose, le courant montant à gauche pour descendre à droite. Il n'existe cependant rieu de semblable; le jeu des granulatious est en réalité tout-à-fait capricieux; mais comme c'est sur les côtés dn psendopode que les grains se voient le mienx, et qn'en général les conrants se croisent. il doit arriver bien souvent que l'nn des côtés soit pour l'observateur à courant descendaut et l'autre à courant montant.

Sur les filaments, et surtout aux angles des bifurcations, se formeut à chaque instant des vacuoles, qni bientôt disparaissent. Qnoi qu'on en ait pu dire, ce sont bien là des vacuoles, mais qni n'ont rien à faire avec des vésicules contractiles, ni même avec les vacuoles proprement dites que l'on est appelé à rencontrer dans tont plasma; ces vacuoles des pseudopodes résultent, suivant toute apparence, de la rencontre de courants protoplasmiques qui en se fusionnant ont englobé une parcelle dn liquide ambiant, laquelle s'est bien vite arrondie.[1])

Lorsque sur les pseudopodes arrive un léger courant de réactif coloré en bleu (dans le cas actuel c'était du bleu de krésyl en solution aqnense). les petits grains se teignent immédiatement. Ils se montrent en même temps comme affolés, coureut de ci et de là, puis reviennent à toute vitesse vers le pédoncule pseudopodique, que l'ou voit bientôt si bien chargé de grains qu'il en devient d'un beau bleu violacé. avant que le plasma lui-même soit coloré. Dans l'intérienr de ce raphé se produit alors bien vite un courant de retour très-distinct, entraînant tous les grains dans le plasma somatique; les psendopodes

[1]) Le Dantec semble croire qu'il n'y a là qne des lacunes, non fermées, plntôt que des vacnoles véritables; mais j'ai pu sonvent m'assurer qne ces lacnnes arrondies sont isolées de tout contact avec le dehors. et ce sont bien alors des vacuoles, que l'on ponrrait appeler „adventives".

enfin se rétractent sur eux-mêmes, et viennent former un amas à la bouche; mais lorsque le liquide coloré est remplacé par de l'eau claire, peu à peu tout redevient normal, et tout pâlit, sauf certains éléments de nature étrangère, parcelles végétales ou autres qui peuvent rester indéfiniment colorés.

Outre ces petites granulations caractéristiques, les pseudopodes portent presque toujours des grains de provenance étrangère, dont la plupart peuvent être considérés comme des éléments nutritifs, des particules capturées et destinées à être conduites dans l'intérieur du corps; et l'observation de ces pseudopodes chargés de nourriture est alors des plus intéressantes: Dans un exemplaire particulièrement examiné sous ce rapport, on voyait par exemple un pseudopode vigoureux, qu'on pouvait supposer se livrer à la pêche, se perdre, après un trajet assez long, dans un amas de débris, un véritable feutre organique formé d'algues, spores, filaments végétaux de toute sorte; les ramifications du pseudopode s'enfonçaient dans ce feutre et disparaissaient à la vue; mais à chaque instant on voyait une petite boulette brillante, logée dans la masse du pseudopode, quitter l'amas de débris et se diriger d'une marche constante vers la bouche; peu après venait une deuxième boulette, puis une troisième; d'autres pseudopodes montraient les mêmes phénomènes, et de tous les côtés arrivaient les boulettes, qui d'abord noyées dans le plasma buccal où elles éprouvaient un temps d'arrêt, se précipitaient enfin dans le „raphé“ et rapidement arrivaient à ce qu'on pourrait appeler le „hile“, pour aller finalement se perdre dans la masse du plasma.

Dans la plupart des cas tous ces éléments nutritifs se montrent représentés par des grains arrondis ou ovoïdes, de 3 à 4 μ de longueur, brillants, et qui ne rappellent ni algues, ni corps organisés quelconques. On en pourrait conclure, comme l'ont fait plusieurs observateurs, que dans les Gromies et autres genres voisins la digestion est purement extracellulaire, et que les pseudopodes n'apporteraient que des produits déjà pour ainsi dire tout prêts, remaniés, assimilables par le plasma sans qu'aucun acte digestif ne soit plus nécessaire; mais, quand bien même il y aurait là une part de vérité, ce serait une erreur que de refuser au plasma somatique des fonctions digestives. En réalité, les Gromies et autres genres voisins peuvent digérer comme les autres rhizopodes; dans les *Gromia brunneri* et *G. squamosa* du lac Léman, par exemple, qui ont un raphé court et large, on trouve le plasma bourré de proies, souvent de grandes diatomées, en cours de digestion, et dans la *Lieberkühnia paludosa* comme dans la *Lieberkühnia wageneri*, où j'ai fait à cet égard des observations minutieuses, j'ai pu fréquem-

ment suivre, du pseudopode jusque dans l'intérieur de l'animal, des fragments verts de chromatophores, des conferves minuscules, et d'autres proies bien reconnaissables.[1] Mais ce qui est vrai, c'est que par suite de l'étroitesse du raphé, seules de petites proies peuvent pénétrer dans le plasma, et c'est là la raison pour laquelle le plasma, lorsqu'on écrase l'animal, ne se trouve renfermer que des éléments nutritifs d'un volume très-faible, et qui souvent échappent à la vue.

Il n'en reste pas moins certain que ces petites boulettes brillantes qui, apportées par les pseudopodes, semblent constituer le plus clair de la nourriture de la *Lieberkühnia*, et dont l'origine première reste cachée, indiquent quelque phénomène spécial; peut-être bien y aurait-il là un commencement de digestion, qui mutatis mutandis rappellerait l'action du suc salivaire dans les vertébrés; ou bien peut-être faudrait-il y voir un émiettement de la proie capturée, en même temps qu'un commencement de dissolution, une phase préparatoire analogue à celle que les serpents font subir à leur proie pour pouvoir mieux l'avaler?[2]

C'est ici le moment de consacrer quelques lignes au pédoncule pseudopodique ou „raphé", que l'on peut considérer comme une sorte d'œsophage, destiné à laisser passer soit la nourriture, soit l'ectoplasme qui formera les pseudopodes.

Le raphé prend naissance, comme nous l'avons dit, à peu près au milieu de la hauteur du corps; il se détache brusquement de l'ectoplasme, et suit jusqu'à la bouche le contour du plasma, logé en partie dans un sillon creusé dans la masse du corps, mais souvent aussi tout-à-fait libre et en dehors du sillon (fig. 3); arrivé à la bouche, le raphé s'évase et attache ses bords à la lèvre du tube buccal, qu'il ferme alors complètement, de sorte qu'il devient im-

[1] Verworn (Allgem. Physiol. 3e édit. p. 159 1901) décrit de la manière suivante le sort d'un infusoire capturé par les pseudopodes de la *Lieberkühnia wageneri*: „On voit l'infusoire diminuer toujours plus de volume, pendant que les parties liquides et granulées de son corps protoplasmique passent au protoplasma du pseudopode, se mêlent à ce dernier, et, sans qu'on puisse les distinguer encore (nicht mehr unterscheidbar), coulent vers le corps central de la *Lieberkühnia*. Ainsi peu à peu tout le corps de l'infusoire est dissous, et son contenu liquéfié se mêle au protoplasma de la *Lieberkühnia*, jusqu'à-ce que rien de l'infusoire ne reste distinct." Cette observation semblerait montrer que la nourriture est liquéfiée, assimilée même, avant de parvenir au corps de la *Lieberkühnia;* cependant les figures (p. 160) qui accompagnent la description de Verworn donnent l'impression que l'infusoire a été pour ainsi dire réduit en miettes, en granulations, qui, toujours visibles, ont été rejoindre la masse de plasma accumulée à la bouche pour s'y mêler à d'autres grains et entrer à leur tour dans l'intérieur du raphé.

[2] Voir plus loin, expérience no 4.

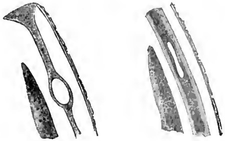
possible à un objet quelconque, si petit soit-il, de pénétrer dans le corps ailleurs que par le raphé lui-même, et sans avoir suivi ce dernier dans toute sa longueur. Le raphé est en effet un tube, incolore et dépourvu des granulations jaunâtres caractéristiques du plasma; ce tube possède une paroi relativement résistante, lisse et hyaline, dont l'existence est en général très-difficile à constater, mais que dans des occasions favorables j'ai pu voir distinctement (fig. 8 b). L'intérieur figure alors un canal, où l'on voit couler le plasma plus liquide, soit que ce plasma se dirige vers la bouche pour s'y déployer en pseudopodes, soit qu'il amène du dehors, comme dans un torrent rapide, les petites perles nutritives, plus rarement de petites proies reconnaissables, minuscules diatomées ou algues filamenteuses étroites.

Le raphé est en général très-étroit, et c'est là la raison pour laquelle on ne trouve jamais dans l'intérieur du corps que des proies très-petites; mais il est susceptible cependant de se dilater dans une certaine mesure, au passage d'un objet de volume exceptionnel.

Lorsqu'une proie, représentée soit par une minuscule spore d'algue, soit par un filament de conferve (les filaments que j'ai vus étaient très-étroits, de $3^1/_2$ à 4 μ d'épaisseur, sur une longueur de 20 à 30 μ), soit surtout par des perles brillantes, arrive du dehors à la bouche, elle éprouve généralement dans le magma protoplasmique qui garnit l'orifice buccal un léger temps d'arrêt, comme une épave qui apportée par un fleuve dans un lac, verrait sa marche ralentie avant d'être seprise par l'émissaire, puis on la voit s'engager dans le raphé, entourée souvent d'une petite vacuole, et alors la marche devient plus rapide; d'un trait la proie gagne la base du raphé, qu'on pourrait appeler le „hile“, s'engloutit dans le plasma jaunâtre, et disparait bientôt emportée dans la cyclose générale. A l'intérieur de l'endoplasme, la digestion se fait alors, mais très-lentement, et j'ai pu voir au matin, encore verts et reconnaissables, des filaments de conferves qui la veille au soir avaient pénétré dans le plasma.

Comme nous l'avons vu plus haut, toute communication avec le dehors a lieu par l'intermédiaire du raphé, et les parois de ce raphé ne sont pas dépourvues d'une certaine consistance; en fait, c'est un véritable tube; lorsque par pression sur le couvre-objet on oblige l'enveloppe à évacuer son contenu, le plus souvent il y a rupture brusque, et le raphé est détruit; mais si la compression est habilement ménagée, on arrive parfois à faire sortir le plasma par le seul raphé, qui s'élargit quelque peu; on voit alors un courant ininterrompu se diriger vers la bouche, entraînant avec lui vers le dehors tous les éléments du plasma,

même des vésicules contractiles, qui, suivant la résistance des parois, ou bien renflent considérablement le raphé (fig. 4 a), ou bien s'allongent elles-mêmes, pour reprendre leur forme arrondie à leur arrivée au dehors (fig. 4 b). La figure 5 représente un cas quelque peu différent:



a

Fig. 4. *Lieberkühnia paludosa.*
Fragment montrant le raphé, qui en a se renfle au passage d'une grosse vacuole prête à sortir du corps; b, vacuole s'allongeant pendant son passage dans le raphé.

un individu, à 10 heures du matin, avait sous une forte pression laissé violemment échapper presque tout son plasma, et cela, suivant toute apparence, avec rupture et destruction du raphé; le plasma expulsé s'était amassé tout autour de l'enveloppe presque vide, froissée et méconnaissable; le noyau, très-défiguré, était resté à l'intérieur de l'enveloppe vidée. A 5 heures du soir cet individu se montrait dans l'état que représente la figure: l'enveloppe se trouvait déjà à moitié remplie par le plasma qui en un courant continu rentrait par un raphé parfaitement caractéristique, mais relativement très-large, et probablement de nouvelle formation (voir aussi la fig. 8, qui représente le raphé plus grossi de ce même individu).

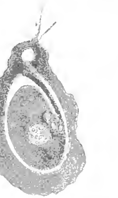
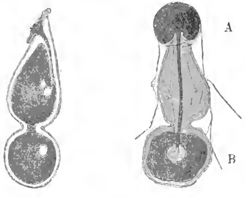


Fig. 5. *Lieberkühnia paludosa.*
Individu écrasé, et qui avait expulsé tout son plasma, dans lequel l'enveloppe se voit noyée; le plasma peu à peu rentre par le raphé dans l'intérieur. En haut, une vésicule contractile dans le plasma expulsé.

Il semble bien, si l'on s'en rapporte à cette observation, qu'un raphé détruit est susceptible de se reconstituer;

mais ce qui est peut-être plus curieux encore, c'est que dans certains cas, après des blessures graves, il peut se former des pédoncules adventifs qui bien vite se mettent à fonctionner comme de véritables raphés, creusés d'un canal interne: Le 27 Février dans l'après-midi, ayant trouvé un individu presque complétement séparé en deux parties, et qui me paraissait devoir donner lieu à un phénoméne de division (fig. 6a), je l'isolai sous le couvre-objet; le soir du même jour il n'avait pas changé d'apparence, et, remettant une goutte d'eau sous la lamelle, puis couvrant le tout d'un linge humide, j'attendis au lendemain. Or le 28 au matin il se trouva que l'eau s'était presque toute évaporée, et que l'animal, fortement mais graduellement comprimé, avait expulsé au dehors la moitié environ de son contenu; mais après adjonction d'eau je fus témoin des phénomènes suivants



a b

Fig. 6. *Lieberkühnia paludosa.*

a. individu anormal, séparé par un étranglement en deux parties, que rejoint un pont; b, le même après une compression qui a fait sortir tout le plasma de la partie antérieure; ce plasma rentre alors peu à peu, et va rejoindre la partie postérieure par un pédoncule adventif.

(fig. 6b): la portion du plasma encore restée à l'intérieur de l'enveloppe (laquelle avait gardé sa constriction de la veille) se rétracta entièrement dans la partie B; la portion expulsée au dehors vint s'accumuler sur l'orifice de l'enveloppe et s'y mit en boule; puis bientôt, de cette boule A comme du plasma B, on vit se projeter, à l'intérieur de l'enveloppe, quelques filaments protoplasmiques très-fins, qui en se rencontrant par leurs extrémités se soudèrent et établirent une communication entre A et B. Un de ces filaments de jonction grossit alors peu à

peu, et devint finalement un véritable pédoncule, à l'intérieur duquel pendant plus d'une heure se mit à passer le plasma, de A dans B, par un courant continu et toujours de même sens. La boule A diminuait toujours de volume, mais cependant, il faut le dire, l'animal, trop défiguré et peut-être malade, n'eut enfin plus la force de se reconstituer complétement, et tout courant s'arrêta.

Nous avons jusqu'ici parlé du raphé comme si cet organe ne présidait guère qu'à l'entrée des ingesta ou éléments divers que l'on peut rencontrer dans le plasma; mais en réalité, le raphé conduit tout aussi bien de l'intérieur à l'extérieur: lorsque par exemple on isole un individu dans une goutte d'eau claire, et qu'on voit cet individu déployer un magnifique réseau de pseudopodes rayonnants,[1] peu à peu les pseudopodes se couvrent de grosses granulations, généralement brunâtres ou jaunes, qui viennent du corps interne et tendent à gagner les parties distales des filaments, où souvent elles s'accumulent en petits amas; et l'on peut suivre alors ces granulations, du plasma interne jusqu'aux pseudopodes, par l'intermédiaire du raphé. En général d'ailleurs, et même sur un animal entouré de débris et occupé en apparence à la pêche, le courant à l'intérieur du raphé n'est pas nécessairement centripète; parfois on le voit s'arrêter d'abord, puis se renverser et se diriger vers le dehors, entraînant les grains jaunâtres dont il vient d'être question. Il me paraît vraisemblable que ces courants centrifuges sont en rapport avec une évacuation de matières inutiles, et peut-être ces éléments évacués représentent-ils des grains d'excrétion.

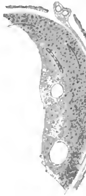


Fig. 7. *Lieberkühnia paludosa*, forme ovoïde. On voit le raphé très-mince, deux vacuoles, et une petite conferve avalée par l'animal; les flèches indiquent le courant rotatoire du plasma.

La structure du raphé tel que nous venons de le considérer concerne la forme typique, allongée, de la *Lieberkühnia paludosa*; dans la forme sphérique de cette espèce, le raphé, sans présenter d'ailleurs aucune différence réelle d'avec ce que nous venons de voir, est plus étroit, réduit pour ainsi dire à sa plus simple expression; ce n'est plus une corde, mais une cordelette (fig. 7), qui, généralement aplatie

[1]) C'est surtout dans la forme sphérique de la *Lieberkühnia* qu'on peut voir ces beaux réseaux rayonnants (fig. 2).

en ruban, rampe sous le tégument. La partie buccale, au lieu de faire nettement saillie au dehors ou de figurer un commencement de tube, n'est plus qu'un faible relèvement de l'enveloppe, comme provenant d'une fente dont l'une des lèvres se serait légèrement soulevée. Tout cela, dans cette forme sphérique, reste presque toujours invisible tant que l'individu n'est pas particulièrement bien orienté, et l'on se demande en vain par où se font jour les pseudopodes; mais, sur des exemplaires favorables à l'observation, on finit par reconnaître qu'il n'y a là rien qui diffère en principe de ce que nous avons vu dans la *Lieberkühnia* type. En somme, on pourrait croire à des individus distendus par un plasma trop riche, et forcés à s'arrondir, en même temps que, par le fait même de la distension, bouche et raphé disparaissent toujours plus à la vue.

Vésicules contractiles.

Dans la *Lieberkühnia paludosa*, on distingue toujours au sein du plasma un nombre plus ou moins considérable de vacuoles, souvent d'un fort volume, que Cienkowsky ne considère que comme des vacuoles ordinaires, mais qui, on n'en peut douter, ont bien certainement la valeur de vésicules contractiles véritables. Ces vésicules sont, il est vrai, paresseuses dans leur fonctionnement; elles grandissent lentement, et grâce au mouvement de rotation du plasma, elles ne paraissent pas nécessairement prendre naissance sur la place même où s'est effectuée la systole; elles mettent un temps considérable, souvent une heure ou plus encore, à acquérir leur dimension maximale, mais toujours il arrive un moment où elles „battent", éclatant à la surface de l'ectoplasme, et tout-à-fait à la manière des vésicules contractiles typiques; puis on les voit se reconstituer peu à peu et grandir. Souvent, quand des vésicules se rencontrent, elles éclatent les unes dans les autres, et de plusieurs vacuoles il s'en forme une seule, plus grande. Quelquefois la systole se fait sur un point quelconque de la surface du plasma, sous la paroi de l'enveloppe; mais le fait est rare, et, normalement, il existe pour la systole une région d'élection spéciale: l'évacuation se fait dans le sillon du raphé, non pas dans le raphé lui-même, ni sur un point quelconque de la rainure caractéristique, mais de préférence vers la base de cette rainure, non loin du point d'origine du raphé proprement dit (fig. 8*e*). C'est que dans cette région toutes les circonstances se réunissent pour permettre l'évacuation la plus aisée possible; les téguments qui plaquent sur le corps rendent en effet la systole difficile, tandis que le sillon, cette large rainure dans laquelle

baigne le raphé, est libre. Ce sillon n'est pas cependant partout à nu: sa partie supérieure est revêtue d'un manteau d'ectoplasme hyalin, légèrement opalescent, relativement dense et résistant, qui fait en quelque sorte fonction de membrane (fig. 8c), et qui lui aussi s'oppose

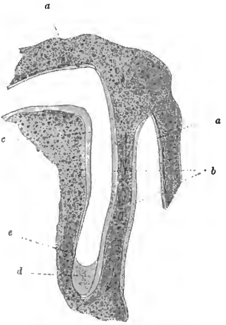


Fig. 8. *Lieberkühnia paludosa.*

Une portion plus grossie de l'individu que représente la fig. 5, montrant le raphé et le plasma qui y rentre. *a*, enveloppe; *b*, couche enveloppante du raphé; *c*, nappe de recouvrement du plasma jaune à la hauteur du raphé; *d*, pellicule de plasma, en forme de lunule (sans signification particulière); *e*, région où se fera le plus volontiers la systole de la vésicule contractile.

à la systole;[1]) mais ce revêtement d'ectoplasme s'amincit peu à peu et d'avant en arrière, et près de la base du raphé il disparaît complétement à la vue; le plasma somatique est pour ainsi dire à nu. C'est alors là que s'arrêtent presque toujours les vésicules contractiles avant d'éclater, et de fait la plupart du temps les individus, au

[1]) Ce plasma de recouvrement, qui protége le corps dans la région où l'enveloppe propre s'en est détachée pour former la visière buccale, est la plupart du temps très-difficilement visible; mais dans certaines occasions je l'ai vu nettement.

moment où on les rencontre, montrent dans cette région une, ou plus souvent plusieurs vacuoles, serrées les unes contre les autres, qui pour ainsi dire attendent leur tour (fig. 1, 3, etc.), et qui fréquemment se fusionnent en une seule pour former une vésicule contractile unique. Cette vésicule arrive alors au contact même du sillon, dont elle n'est plus séparée que par une lame à peine visible, une paroi toujours plus amincie; puis cette paroi disparaît finalement à la vue, comme percée d'un trou, et la vésicule se vide dans le sillon, en même temps que, à mesure qu'elle se vide, on voit le plasma somatique venir remplacer le liquide évacué.[1])

Ainsi donc, la *Lieberkühnia paludosa* possède de véritables vésicules contractiles. Il serait cependant imprudent de regarder comme telles toutes les vacuoles que l'on observe dans le corps; parfois également, on remarque à l'intérieur même des larges troncs pseudopodiques, des vacuoles rondes qui à un moment donné éclatent, et disparaissent pour ne plus revenir; mais il n'est pas nécessaire de leur accorder la signification de vésicules contractiles, pas plus qu'aux petites vacuoles adventives qui, nous l'avons vu, se forment sur les bifurcations des filaments pseudopodiques.

La présence de vésicules contractiles, que l'on s'accorde à regarder comme des organes d'excrétion, est sans doute en corrélation avec une digestion intracellulaire, qui, nous l'avons vu, si elle n'est pas seule, joue en tout cas un rôle bien certain dans la *Lieberkühnia*; et à cet égard je me demande si la persistance que plusieurs auteurs ont mise à nier dans cet organisme la valeur des grandes vacuoles en tant que vésicules contractiles, ne serait pas un peu due à la difficulté que ces auteurs éprouvaient à expliquer la présence de vésicules contractiles dans un organisme où la digestion devait d'après eux être purement extracellulaire.

Noyaux.

La *Lieberkühnia paludosa* possède un ou plusieurs noyaux; bien que l'unité soit fréquente, ce sont les individus plurinucléés que l'on rencontre le plus souvent; le nombre des noyaux est alors extrêmement variable, et l'on n'y remarque pas ici de progression arithmétique 2, 4, 8, 16, 32, comme celle que l'on a constatée dans quelques rhizopodes, par exemple dans la *Zonomyxa violacea*;[2]) le nombre de

[1]) Voir la fig. 17, qui concerne la *Lieberkühnia wageneri*, où les phénomènes sont identiques.

[2]) Penard, Revue Suisse de Zool., t. 14 fasc. 2 p. 120, 1906

30 est en tout cas très-rarement dépassé, et ce sont peut-être les chiffres de 4 à 10 qui reviennent le plus souvent. La taille de l'animal ne fait rien à l'affaire; que les individus soient gros ou petits, on les verra indifféremment uninucléés ou multinucléés; cependant, d'une manière générale, on peut dire qu'à partir d'un certain âge il y a tendance à la réduction plutôt qu'à l'augmentation du nombre des noyaux. Il en est de même lors des processus qui semblent tendre à la formation de kystes de repos, et par exemple les gros individus, à membrane rugueuse, et d'une teinte orangée vive, qui paraissent n'être pas éloignés de l'état enkysté, ne renferment la plupart du temps qu'un noyau unique.[1])

On peut également ajouter que, par une règle qui ne parait pas souffrir d'exceptions, 1° le nombre des noyaux est d'autant plus considérable que ces noyaux sont eux-mêmes plus petits, et 2° que tous les noyaux de tel ou tel individu, quel que soit leur nombre, ramenés à une seule masse, donneraient un noyau unique dont le volume conviendrait à cet individu s'il était uninucléé.

Le noyau est globuleux, et sa structure peut toujours se ramener à un même type, celui d'une sphère creuse remplie d'un suc nucléaire pâle dans lequel baignent des nucléoles arrondis; mais cette structure est cependant quelque peu variable suivant l'âge de l'individu et le volume du noyau lui-même (fig. 9a et b). Si nous prenons alors



a b

Fig. 9. *Lieberkühnia paludosa.* Deux noyaux.

comme type le nucléus unique d'une grosse *Lieberkühnia*, nous pourrons le décrire de la manière suivante: Le noyau, qui peut atteindre à 82 μ de diamètre, possède, dans un suc nucléaire grisâtre, un nombre plus ou moins considérable, mais toujours restreint, de nucléoles très-

[1]) Cela est si vrai, que, pendant les journées que j'ai consacrées à l'étude du noyau, j'avais bien vite appris, pour obtenir cet organe aussi volumineux que possible, à choisir les individus sphériques et orangés, qui quatre fois sur cinq au moins ne renfermaient qu'un seul noyau, alors très-gros.

pâles et bien nets, à contour arrondi, ou ovale, ou plus souvent encore irrégulier et amiboïde; dans ce dernier cas chaque nucléole, qui renferme normalement une, deux ou plusieurs vacuoles rondes et bien nettes,[1]) représente une petite amibe, à laquelle il ne manquerait que le noyau; et des aspérités ou angles de cette amibe se dégagent de véritables filaments, très-fins, dont on ne voit d'ailleurs guère que la base et dont l'extrémité se perd bien vite à la vue. Ainsi constitués, ces nucléoles, qui le plus souvent ont une tendance à se fixer contre la paroi de la membrane nucléaire, s'attachent les uns aux autres, et quelquefois se fusionnent par leurs prolongements; ils rampent et se déforment, mais avec une lenteur telle qu'il faut des heures entières pour constater un changement dans leur contour. En outre, le suc nucléaire renferme des éléments plus petits, globules plasmatiques pâles qui se montrent par ci par là noyés.

Ce serait là la description d'un grand noyau, tel qu'on les trouve le plus habituellement; mais d'autres fois la structure est un peu différente: les nucléoles sont plus nombreux, plus arrondis, non amiboïdes, ou ne se montrent pas accompagnés de globules plasmatiques plus petits. Dans les noyaux de faible volume, de 17 à 20 μ, très-jeunes en apparence, et qui sont nombreux dans l'individu, les nucléoles, en nombre très-restreint, se voient le plus souvent soudés largement les uns aux autres, et accolés sous la paroi nucléaire en une masse presque continue, ondulée.

Plus rarement enfin les noyaux, au lieu de nucléoles relativement volumineux, en renferment de très-petits et en nombre alors extrêmement considérable; c'est là un cas peu ordinaire, et qui pourrait bien être en rapport avec l'état de santé de l'animal; tout au moins est-ce là ce que me porterait à conclure l'observation suivante: ayant mis dans un verre de montre, en partie le 3 Mars et en partie le 7 Mars, 10 *Lieberkühnia*, et les ayant gardées jusqu'au 18 Mars, après avoir tous les jours renouvelé l'eau mais sans fournir aux animaux aucune nourriture, je trouvai, à cette dernière date, que dans tous les individus les noyaux, sans avoir changé ni de taille ni de nombre, renfermaient des nucléoles globuleux, extrêmement nombreux et extrêmement petits. Comme en temps habituel de tels noyaux sont exceptionnels, il ne serait guère raisonnable de supposer que ces 10 individus pris tout-à-fait au hasard eussent tous dès l'origine renfermé ces noyaux spéciaux.

[1]) Ce sont là, bien certainement, de vraies vacuoles, et pas seulement des apparences, comme on l'a dit quelquefois.

Division, enkystement.

D'après Cienkowsky, la *Lieberkühnia paludosa* est susceptible de se diviser, par un simple étranglement du plasma comme de l'enveloppe elle-même, en deux ou plusieurs nouveaux individus. J'ai fréquemment trouvé des exemplaires dont l'apparence était telle, qu'on y croyait voir un commencement de division, et parfois l'étranglement était si prononcé que d'un instant à l'autre je m'attendais à voir s'effectuer la séparation complète (fig. 10 et 11); il semblait, par exemple, y avoir déjà deux individus, deux plasmas reliés par un simple ruban, et dont chacun montrait clairement une cyclose distincte; mais toujours mon attente a été déçue, et même après avoir laissé pendant

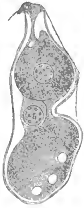


Fig. 10. *Lieberkühnia paludosa.* Individu (probablement malade) dont l'enveloppe est fortement étranglée, et le plasma séparé en deux parties que relie un pont; à droite deux filaments protoplasmiques; deux noyaux, dont l'un est presque isolé entre les deux portions du plasma.

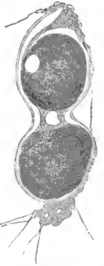


Fig. 11. *Lieberkühnia paludosa.* Individu anormal, étranglé en deux portions que relient des ponts de plasma: les flèches indiquent la direction du mouvement rotatoire du plasma dans chacune des moitiés.

la nuit ces individus dans des verres de montre, au matin je les trouvais tels que je les avais vus la veille. Le plus souvent c'étaient là en même temps des individus difformes, dont l'enveloppe était en partie vidée de son contenu, pâles et remplis non plus des petits grains jaunes caractéristiques, mais de corps cristalloïdes et incolores. Comme en outre ces individus se rencontraient surtout dans les

vieilles récoltes d'où la vie disparaissait peu à peu, et que de plus, jamais je n'ai pu constater chez eux l'existence de deux raphés, je crois devoir supposer que mes observations ont porté sur des animaux malades, et que le phénomène de la division normale, telle que Cienkowsky l'a observée, et dont il n'y a du reste pas lieu de douter, m'a toujours échappé.

Toutes mes observations, comme il a été dit plus haut, ont été faites en hiver, et les animaux, qui par centaines habitaient les mousses aquatiques (*Hypnum scorpioides*) protégées par une forte couche de glace, se montraient alors bien souvent dans un état que je ne puis m'empêcher de comparer à un enkystement, bien qu'il n'y eût pas là de kystes véritables, puisque après un instant, de cette masse en apparence enkystée, on pouvait voir se déployer un réseau de pseudopodes.

Dans cet état l'animal, sphérique ou ovoïde, à plasma presque toujours orangé, possédait une enveloppe relativement rigide, légèrement jaunâtre, tout entière couverte soit de petites paillettes ou particules de limon, soit de minuscules carapaces de diatomées ou d'algues rondes, et sous cette enveloppe externe se voyait, fréquemment, une membrane plus interne, épaisse et molle. On rencontrait quelquefois aussi des individus irréguliers dans leurs contours, lobés, sinueux, etc., et pour ainsi dire amiboïdes, qui semblaient vouloir se diviser, et qui étaient entourés de cette enveloppe large, molle et opalescente. Un jour même, je trouvai un de ces individus encore attaché à un fragment de membrane dure, qu'il abandonna plus tard, et que l'on ne pouvait s'empêcher de comparer à un kyste rejeté (fig. 12).



Fig. 12. *Lieberkühnia paludosa*. Individu se déployant au dehors en abandonnant son ancienne enveloppe (et probablement passant de la forme sphérique à la forme allongée ou errante).

Lorsque l'on abandonne à eux-mêmes des animaux d'apparence normale dans des verres de montre où l'eau n'est pas renouvelée, on les voit peu à peu, ou bien mourir, ou bien arrondir leurs contours, prendre la forme d'un œuf, d'une fève, etc., et leur enveloppe se durcit, en devenant légèrement jaunâtre. Il se passe alors parfois, en même temps, un phénomène curieux: l'enveloppe devient tigrée, montre par ci par là de grosses taches brunes, rondes, et par un examen attentif on peut s'assurer que chaque tache représente un épaississement local de la mem-

brane, épaississement qui se fait vers l'intérieur, et devient peu à peu si accentué qu'on y distingue une saillie très-nette. un coussinet qui repousse le plasma en dedans (fig. 13). En même temps, la zône d'épaississement se colore en un jaune de rouille.

C'est ici, en parlant de ce pseudo-enkystement, qu'il nous faut discuter la signification de la forme sphérique que peut revêtir cet organisme, forme qui n'a pas été remarquée jusqu'ici par les rares observateurs qui ont eu sous les yeux la *Lieberkühnia*, et que, dans les premiers temps, j'étais porté à envisager comme une espèce spéciale, rentrant dans le genre *Gromia*. Cette forme, nous l'avons vu, se distingue du type par les traits suivants: 1° elle est sphérique, ou ovoïde, régulière dans son contour; 2° la membrane, plus mince, est cependant plus rigide, et généralement rugueuse; 3° il est extrêmement difficile d'y constater l'existence d'un raphé; 4° le prolongement buccal est nul ou à peine indiqué. En résumé, cette forme de *Lieberkühnia* diffère notablement de la forme type; mais j'ai pu, avec le temps, me convaincre que c'est encore toujours bien là la *Lieberkühnia paludosa*. En effet, 1° entre les deux formes extrêmes on peut rencontrer toutes les transitions possibles; 2° dans ces deux formes, les noyaux sont identiques, comme aussi les pseudopodes; 3° les individus de la forme type laissés quelque temps dans des verres de montre, fréquemment s'y arrondissent, et on ne les distingue alors plus guère de ceux de la forme sphérique; enfin 4° le cas cité plus haut d'un individu se rapportant à la forme allongée et qui abandonnait derrière lui un fragment d'enveloppe de la forme sphérique est bien de nature à montrer une identité spécifique.

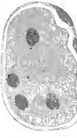


Fig. 13.
Lieberkühnia paludosa. Individu à l'état de repos, ou de kyste (?); par ci par là des „taches de rouille"; en haut à droite on voit ces taches par la tranche, renflant la membrane (préparation au baume).

Mais alors, si dans cette forme sphérique nous avons encore la *Lieberkühnia paludosa*, quelle signification cette forme porte-t-elle en elle-même? Pour moi, je serais porté à croire qu'il y a là en quelque sorte un état de repos (peut-être hivernal?); après que le corps s'est rempli de nourriture, il se produirait une distension de l'enveloppe, qui s'arrondirait en durcissant quelque peu, et en se couvrant de paillettes. L'animal aurait cependant encore la faculté de développer des pseudopodes, et serait également susceptible de

„changer de peau“, d'abandonner sa vieille enveloppe pour se montrer revêtu d'une membrane lisse et plastique.

Expériences diverses.

1re exp. On sait que dans les Gromies en général, les pseudopodes détachés se mettent en étoile et se conduisent pendant quelque temps encore comme des organismes autonomes. Il est très-facile dans la *Lieberkühnia paludosa* de détacher le réseau pseudopodiqne: il suffit pour cela, sur un animal largement étalé, de pousser quelqne peu de côté le couvre-objet, ou bien encore de frapper d'un coup sec sur ce dernier. De cette manière, j'ai fréquemment isolé des portions, souvent considérables, dn réseau pseudopodique, et il est aisé alors de se débarrasser de la *Lieberkühnia* mère, pour ne laisser que le réseau, qui sous un nouveau couvre-objet paraît être nn organisme à part, un rhizopode réticulé, mais dépourvu de noyau.

La plnpart du temps, le réseau est, par le fait de l'opération chirnrgicale, déchiré en lambeaux, et donne lieu à l'apparition de plusieurs petits rhizopodes, qui s'ils viennent à se rencontrer par lenrs filaments, se fnsionnent en un seul. De suite après la séparation d'avec la mère, les pseudopodes ainsi détachés restent un moment immobiles, puis les petits grains qui les recouvrent se mettent à courir dans toutes les directions, comme affolés, et un peu plus tard les lambeaux se ramassent sur eux-mêmes, et simulent une petite amibe, dans laqnelle peu à peu se forment des vacuoles; puis l'amibe se met en étoile, et de tous les côtés poussent des pseudopodes, sur lesquels la circnlation des grains redevient active. D'après Le Dantec,[1]) ces petits individus (dans la *Gromia fluvialis*) entrent en dégénérescence au bout de quelques heures; probablement Le Dantec a-t-il eu affaire à des lambeaux très-petits, dont l'existence est en effet plus courte que celle des gros fragments: pour mon compte j'ai plusieurs fois conservé ces petites étoiles pendant plnsieurs jours. Lorsqne les étoiles résultent d'un écrasement de la *Lieberkühnia*, et qu'au plasma psendopodique il s'est mêlé quelque fraction de la masse jaunâtre de l'endoplasme expulsé au dehors, la vie est plus tenace encore, et je citerai sous ce rapport le cas suivant: Le 11 Mars dans l'après-midi, j'avais avec prudence écrasé une *Lieberkühnia*, dont il était sorti deux petites masses de plasma, formées chacnne soit d'endoplasme soit d'ectoplasme; le lendemain matin, ces deux masses étaient devenues deux magnifiques rhizopodes nus, avec particules jaunâtres, et circnlation active des grains sur les pseudo-

[1]) C. R. Acad. Sci., t. 119 1894.

podes; le 13 Mars, les deux rhizopodes étaient en pleine activité; le 14, ils se trouvaient encore en étoile, mais la circulation des grains était faible; le 15 Mars au matin, on les voyait en boule. mais sous l'influence de la lumière ils se déployèrent rapidement en étoile, en gardant cependant un corps central assez compact, d'où ne rayonnaient que des filaments très-minces, sur lesquels les grains peu nombreux, ne se mouvaient que lentement. Le 16 Mars, les deux individus étaient sphériques, avec quelques filaments très-fins. et ne voulurent plus se départir de cette forme. C'est à ce moment que je les ai abandonnés.

En général, les derniers signes de l'activité de ces fragments épuisés et qui se sont mis en boule, se montrent dans la cyclose caractéristique; la boule semble tourner sur elle-même, mais en réalité, dans la plupart des cas au moins, elle ne tourne pas; c'est son plasma tout entier qui est en rotation, sous une pellicule d'ectoplasme inerte, et par une illusion d'optique on se figure que la sphère pivote sur elle-même.

Expérience 2. Le 15 Mars j'isolai un individu, qui après être resté 5 jours dans un verre de montre avait acquis une teinte spéciale d'un bleu pâle, et par écrasement je fis sortir d'un seul coup la plus grande partie du plasma; je pus constater alors que la teinte bleuâtre provenait d'une grande quantité de petites boulettes colorées, qui remplaçaient cette fois les boulettes vertes à chlorophylle qu'on trouve souvent en grand nombre dans le plasma; et cette coloration à son tour provenait, sans aucun doute, de ce que le verre de montre avait précédemment contenu du bleu de krésyl et n'avait été essuyé que d'une manière imparfaite; ces faibles proportions de krésyl avaient cependant suffi pour colorer les boulettes. en laissant le plasma indemne.

A 9 h du matin, j'isolai cette masse sur un nouveau porte-objet. en laissant sur l'ancienne lamelle l'enveloppe presque vide, et qui renfermait encore le noyau (c'était un individu uninucléé, à noyau très-volumineux). La masse isolée se concentra sur elle-même. s'arrondit avec des contours irréguliers, puis à 1 heure je la trouvai telle que la représente la fig. 14, avec un magnifique réseau de pseudopodes, garnis par places de produits d'évacuation. A 3 h $^1/_2$, en remettant de l'eau claire sous le cover, ce cover glissa et la masse se coupa en deux.[1]) Chacun des deux fragments, l'un plus gros l'autre plus petit, s'arrondit et déploya son réseau. A ce moment

[1]) Dans tout le cours de cette expérience, comme dans une autre du même genre, il m'a fallu user des plus grands ménagements pour éviter la déchirure de

aussi j'ajoutai au liquide une goutte d'eau dans laquelle fourmillaient de petites Euglènes, des zoospores d'algues, des flagellates et des diatomées de très-faible taille. Le mouvement des grains sur les

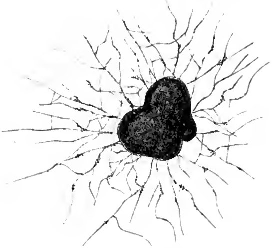


Fig. 14. *Lieberkühnia paludosa.*
Plasma expulsé par compression, et qui bientôt se reforma en un individu en apparence parfait, mais à contour irrégulier, et dépourvu d'enveloppe comme aussi de noyau. Sur les pseudopodes on voit des amas de grains jaunes venant du corps.

pseudopodes fut bientôt en pleine activité, et de grosses perles brillantes se voyaient entraînées vers le corps; je vis également quelques petites diatomées englobées par le plasma. Le corps même de chacun des deux individus s'était mis en boule, et les pseudopodes partaient alors d'une seule et même région, mais sans qu'il y eût trace de raphé. A 4 h $^1/_2$, les deux individus, qui étaient à 8 distances environ l'un de l'autre, vinrent à se mettre en rapport par quelques pseudopodes, et peu à peu, très-lentement, ils se rapprochèrent, se tirant pour ainsi dire comme par une corde sur un de ces pseudopodes considérablement élargi, ou pédoncule commun, qui les reliait l'un à l'autre, et à l'intérieur duquel on voyait courir des petits grains jaunes.

Le 16 Mars au matin, les deux individus avaient complété leur fusion, et l'on ne voyait plus qu'un beau rhizopode, sphérique, avec

l'animal, qui privé de son enveloppe et incapable d'en construire rapidement une nouvelle, devient extrêmement fragile et se comporte comme une parcelle de gélatine.

un magnifique réseau, qui partait d'une seule région du corps. Ce rhizopode resta tel pendant toute la journée, mais le 17 Mars à 9 h du matin il avait disparu, et sa place ne se trouvait plus marquée que par des grains jaunâtres, quelques diatomées vides, et un très-gros cristal de forme particulière qu'il avait constamment porté sur lui. Il est probable que l'animal avait été dévoré, soit par des rotifères, soit par quelques petits crustacés qui en effet s'étaient introdnits sous la lamelle en même temps que les Euglènes.[1]) Sans cette destruction violente, l'observation aurait probablement pu être continuée de longs jours; mais telle qu'elle est, cette expérience est intéressante, en montrant un animal qui bien que totalement privé de noyau comme d'enveloppe, s'est conduit assez longtemps comme un individu normal, et a absorbé de la nourriture.

Expérience 4. Le 17 Mars, je mis une dixaine d'individus, appartenant tant à la forme allongée qu'à la forme sphérique de la *Lieberkühnia*, dans un verre de montre où l'eau claire avait été additionnée de milliers d'Euglènes, flagellates, spores d'algues et petites diatomées.[2]) Au matin du 18 Mars, presque tous les individus renfermaient dans leur corps des Euglènes, à un état plus ou moins avancé de digestion (parfois on voyait encore la „tache rouge"), mais sans qu'il y eût en apparence de vacuoles autour des ingesta; on y trouvait aussi quelques diatomées, choisies parmi les plus petites que renfermât le liquide, les seules sans doute qui pussent passer par le raphé. En examinant ces mêmes individus plus attentivement, j'ai pu également suivre soit des zoospores vertes, soit quelques diatomées qui cheminaient à l'intérieur du raphé pour aller se perdre dans l'endoplasme.

Lieberkühnia wageneri Clap. et Lachm.

Bien que d'une taille beaucoup plus faible que dans l'espère précédente, la *Lieberkühnia wageneri*, grâce à sa transparence, est d'une étude plus facile, et peut-être plus intéressante encore; mais comme toutes les observations qne j'ai pu faire sur cette espèce ont donné des résultats identiques à ceux qui ont été relatés dans les

[1]) En temps ordinaire, la *Lieberkühnia* n'a sans doute pas grand' chose à craindre de ces animaux qui ne sont guère plns gros que lni, mais l'individn en question avait perdu son enveloppe, et se tronvait dans la position d'un Bernard l'Hermite dépourvu de la coquille qui le protége normalement.

[2]) Ici comme dans l'expérience précédente, toutes ces Englènes, etc., provenaient d'une localité différente de celle où vivait la *Lieberkühnia*, et jusque là ne s'étaient jamais rencontrées dans le plasma des individus écrasés.

pages précédentes, et que décrire ces observations tout au long ce serait presque me répéter, je traiterai le sujet plus brièvement.

Dans cette espèce, qui se rencontrait à Bernex avec la précédente, la taille est beaucoup plus faible, quoique extrêmement variable, on peut dire que la plus grande partie des individus varient entre 80 et 120 μ en longueur; de gros exemplaires arrivent à 130 et 160 μ, et le plus volumineux que j'aie trouvé, un individu particulièrement allongé, atteignait 200 μ. Par contre, on rencontre un assez grand nombre d'exemplaires, arrondis ou sphériques en général, qui ne dépassent pas 50 à 60 μ; au-dessous de ce chiffre, ce sont des individus très-jeunes, des embryons pour ainsi dire, dont le plus petit que j'ai pu étudier mesurait 32 μ.

Le corps (fig. 15 et 16), de forme généralement subsphérique ou ovoïde, quelquefois aussi étiré comme celui de la *Lieberkühnia paludosa*, est revêtu d'une enveloppe très-transparente, incolore ou

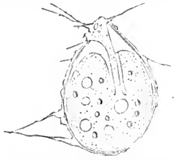


Fig. 15. *Lieberkühnia wageneri.* Un individu vu par sa face dorsale, et à raphé relativement très-large; dans le corps on voit des vésicules contractiles, puis les grains pâles caractéristiques.

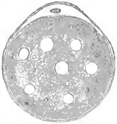


Fig. 16. *Lieberkühnia wageneri.* Individu sphérique, vu de face, par la bouche; en haut, le raphé vu en coupe optique.

à peine jaunâtre, éminemment souple et déformable, très-mince, lisse et délicate.[1]) A sa partie antérieure, cette enveloppe s'étire, se relève un peu en casque, et s'ouvre en une bouche excentrique, que vient remplir l'ectoplasme amené par le raphé. Sur une vue latérale, l'apparence sera celle que montre la fig. 15, et de face, le dessin sera tel que l'indique la fig. 16; dans cette dernière figure, on voit

[1]) L'aptitude aux déformations est illustrée ici par la fig. 20c, où l'on voit un individu qui arrêté par un obstacle, se moulait en partie sur ce dernier, pour le dépasser finalement.

une ouverture semi-lunaire, au centre de laquelle est le raphé, nettement visible en section transversale.

Le plasma est beaucoup plus clair que dans l'espèce précédente, et les petits grains caractéristiques et globuleux qu'il renferme sont moins nombreux, et à peu près incolores; en outre, on y trouve normalement des grains volumineux, brillants, parfois vaguement cristallisés (fig. 15); dans une occasion particulière, j'ai observé pendant deux jours un de ces grains, très-gros, qui logé dans l'endoplasme s'y distinguait très-nettement, et au bout du second jour ce grain s'est montré défiguré, rongé et comme résorbé en partie.

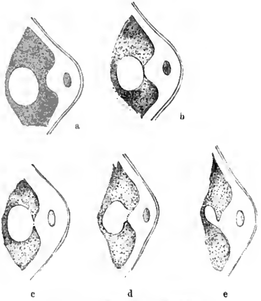


Fig. 17. *Lieberkühnia wageneri.*
De *a* à *e*, phases successives de la systole; en a la vésicule se rapproche du sillon du raphé; en *b* elle arrive au contact du sillon; de *c* à *e*, systole. Partout, à droite, on voit le raphé, en section transversale, puis l'enveloppe, relevée au-dessus du raphé.

Comme dans la *Lieberkühnia paludosa*, le plasma ne renferme pas en général de nourriture sous forme de corps figurés nettement reconnaissables, mais cependant, ici encore, la règle n'est pas absolue, et j'ai rencontré parfois des filaments confervoïdes dans l'intérieur du plasma, ou j'ai vu soit des grains brillants, soit des particules vertes, passer dans le tube ou raphé caractéristique pour aller se perdre dans le corps.

La cyclose est dans cette espèce souvent très-active, bien qu'il y ait à cet égard beaucoup de variabilité, et que certains individus ne montrent qu'une rotation très-lente du plasma.

On voit toujours des vésicules contractiles, souvent nombreuses, qui battent à intervalles beaucoup plus courts que dans l'espèce précédente, à peu près toutes les dix minutes en moyenne; et presque toujours ces vésicules éclatent dans le sillon et près de la base du raphé;[1]) la fig. 17, par exemple, montre en a, b, c, d, e, les différentes phases de la contraction de la vésicule, pendant une durée totale de 5 à 6 secondes.

Le raphé est absolument analogue à celui de la *Lieberkühnia paludosa*, mais plus mince, d'un bleu plus délicat et plus pur; en coupe transversale, il se montre presque toujours elliptique, ou même parfois aplati en ruban, avec son côté large regardant vers l'extérieur. Ce raphé se détache en général nettement à la vue; sa course est normalement de un quart de circonférence, mais parfois, et surtout dans les exemplaires très-petits, elle est plus longue encore. Arrivé à la bouche, le raphé s'étale en trompette, puis le plasma hyalin qu'il amène se répand comme un vernis sur toute l'enveloppe, et à la bouche se déploie en pseudopodes. On voit alors se faire jour un filament très-pâle, qui timidement va plus loin, se déplace tout d'une pièce dans le liquide, puis s'allonge et produit quelques ramifications. Plus tard les pseudopodes deviennent d'une finesse extraordinaire, et, généralement peu nombreux et ne formant entre eux que de rares anastomoses, peuvent se projeter, par une marche soit droite soit très-souvent flexueuse, jusqu'à une distance incroyable; c'est ainsi que pour un exemplaire ovoïde dont le corps mesurait 110 μ, le pseudopode le plus long pouvait un jour être suivi jusqu'à une distance de 1800 μ; ce n'était plus alors qu'un fil d'une extrême ténuité, que seul un fort grossissement aidé d'un bon éclairage pouvait mettre en évidence; et malgré leur finesse, ces filaments, à une distance de 15 à 16 fois la longueur de l'animal

[1]) De tous les rhizopodes que j'ai observés, c'est la *Lieberkühnia wageneri* (et surtout les exemplaires les plus petits et les plus transparents) qui m'a fourni les meilleures indications sur l'évacuation de la vésicule contractile; dans ces individus, on voit clairement que l'évacuation ne peut se faire qu'au dehors. J'ai fait dans le temps beaucoup de recherches sur la vésicule contractile, et j'ai consacré de nombreuses pages à montrer que l'évacuation pourrait bien être interne; mais si alors j'avais eu l'occasion d'étudier, comme je l'ai fait cette année, la *Lieberkühnia wageneri*, je n'aurais, me semble-t-il, plus conservé de doutes sur la réalité de cette évacuation à l'extérieur.

qui leur a donné naissance, peuvent encore recevoir du plasma que leur envoie le corps, et qui se met en étoile, figurant un organisme en apparence autonome, extrêmement petit, relié à l'individu-mère par un long fil dont l'épaisseur est de moins de $^1/_2$ μ.

Dans cette espèce, les expériences que l'on peut faire sur les pseudopodes détachés du corps, donnent des résultats identiques à ceux que l'on a vus plus haut pour la *Lieberkühnia paludosa*, et je ne reviendrai pas sur le sujet.

Claparède et Lachmann, qui les premiers ont décrit la *Lieberkühnia wageneri*, n'ont pas pu y trouver trace de noyau; Siddall[1] par contre, en 1880, indique, mais d'une manière assez vagne, un grand nombre de „noyaux vésiculaires, de 13 μ de diamètre", c. a. d. beaucoup plus volumineux que ces organes ne le sont vraiment en général dans cette espèce; Maupas,[2]) en 1882, a trouvé „un très-grand nombre de nucléus, de 4 μ," dont il ne donne pas la structure; enfin plus tard, en 1889, Verworn[3]) met en doute l'existence même de noyaux: „Malgré l'emploi des réactifs colorants les plus variés." dit-il, „je n'ai jamais pu constater d'éléments quelconques que l'on pût clairement rapporter à des noyaux ..... c'est pourquoi il est à mon avis extrêmement probable que la *Lieberkühnia wageneri* est une véritable monère ..." etc. Verworn se trompe, ou plutôt il a parfaitement vu les noyaux, dont plusieurs sont bien certainement représentés dans la fig. 17b, de la pl. V de l'auteur, figure qui montre une portion du plasma isolée au dehors, et qui justement est destinée à prouver le manque de noyaux; Verworn a donc été la victime d'une confusion, en prenant les noyaux réels pour des corps sans signification spéciale que le plasma aurait renfermés.

En réalité, il existe des noyaux, en nombre fort variable mais toujours assez considérable, rarement inférieur à 30 et souvent supérieur à 150; ces noyaux sont sphériques, et leur volume est en général de 6 μ environ, aussi bien dans les petits individus que dans les grands, où leur nombre est alors plus considérable. Par exception, dans un individu qui d'après sa taille aurait dû posséder plus de 100 noyaux, on n'en trouvait qu'une vingtaine, de structure d'ailleurs parfaitement conforme au type, mais dont le diamètre atteignait la mesure de 11 μ.

La structure normale de ces noyaux est tout-à-fait particulière (fig. 18a à d): sous une enveloppe pâle, est un suc nucléaire limpide,

[1]) Quart. Journ. micr. Sci., n. ser. vol. 20 p. 141—145.

[2]) C. R. Acad. Sci., vol. 95 p. 191.

[3]) Psychophysiologische Protistenstudien, p. 23.

dans lequel on voit en général nager des poussières ou granulations très-fines; puis, étalé sous l'un des pôles, on trouve un gros nucléole, hémisphérique ou légèrement creusé en coupe, d'un bleu pâle, homogène ou parfois pourvu de quelques vacuoles (fig. 8a); parfois ce nucléole, toujours très-net et presque réfringent sur ses bords, se voit épaissi sur sa face méridienne en une couche de plasma particulièrement dense et foncée (fig. 18b);[1]) rarement le nucléole, relativement peu volumineux, est accompagné d'un ou de deux autres nucléoles très-petits et plus pâles que le principal (fig. 18c); quelquefois enfin, et dans les cas spéciaux où les noyaux sont peu nombreux et relativement très-grands (10 à 12 μ), il existe une demi-douzaine de nucléoles, dont chacun, sous la forme d'une lentille fortement biconvexe, se voit collé à la paroi de la membrane nucléaire.

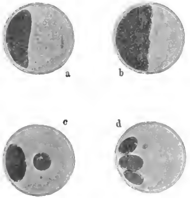


Fig. 18. *Lieberkühnia wageneri.* Noyaux. *a* et *b*, structure habituelle; *c*, 2 nucléoles, dont l'un plus gros et plus foncé repose sur le fond de l'enveloppe; *d*, noyau d'un individu très-jeune, avec nucléoles reposant les uns près des autres sur le fond de l'enveloppe.



Fig. 19. *Lieberkühnia wageneri.* à Individu 2 raphés.

Dans la *Lieberkühnia wageneri* on est beaucoup plus souvent que dans l'espèce précédente appelé à rencontrer des individus munis de deux raphés, ainsi que de deux bouches situées aux pôles de l'animal (fig. 19, 20); probablement le fait est-il en corrélation avec un

[1]) Suivant l'orientation du noyau, le nucléole se voit, non plus de côté comme dans la figure 18, mais de face, et se montre par conséquent arrondi et central; c'est pour cette raison qu'en 1902, n'ayant eu l'occasion d'examiner qu'un seul individu, je donne le nucléole comme central.

phénomène de division; mais, il faut le dire, bien qu'ayant à plusieurs reprises gardé de tels individus en observation pendant plus de 24 heures, je n'ai jamais vu la divisiou s'effectuer. La fig. 21 représente un cas spécial, où pour deux bouches il n'existait en apparence qu'un raphé unique et allant d'un pôle à l'autre; probablement

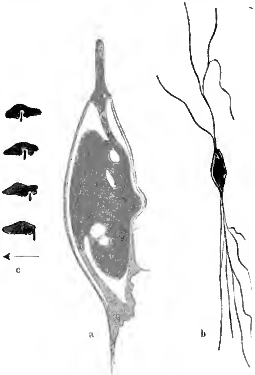


Fig. 20. *Lieberkühnia wageneri.*

a, un individu, allongé, et à deux raphés; les pseudopodes ne sont représentés que par le tronc, coupé à sa base; *b*, le même individu faiblement grossi, montrant le déploiement des pseudopodes (que l'on a représentés de moitié trop courts); *c*, ce même individu passant sur un obstacle, et finissant par l'abandonner derrière lui.

y avait-il, à l'équateur, un point de soudure avec le plasma, et qui restait caché à la vue; mais cette observation serait en tout cas intéressante en ce qu'elle semblerait montrer que, dans les individus doubles, c'est le raphé de l'animal primitivement simple, et non pas une partie quelconque du plasma, qui aurait donné naissance au

raphé nouveau. Du reste, il n'y a là de ma part qu'une supposition, rendue au premier abord assez peu vraisemblable par le fait que, dans les individus doubles, les deux raphés ne se trouvent pas nécessairement à la suite l'un de l'autre, sur une même ligne méridienne. Cependant, tel est bien là le cas le plus fréquent, et dans les individus où les deux raphés sont sur deux méridiens différents, on pourrait toujours concevoir que les déformations générales du plasma, pendant la cyclose, eussent éloigné l'un de l'autre deux raphés primitivement en regard.

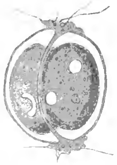


Fig. 21. *Lieb. wageneri.* Individu à deux bouches, mais dont les deux raphés ne sont que le prolongement l'un de l'autre, et semblent n'en faire qu'un. A gauche, une vésicule contractile pendant la systole.

Outre la division par étranglement du corps, dont il n'y a pas lieu de douter et que Maupas à constatée, il doit exister, à mon avis, au moins un autre mode de reproduction, peut-être par spores ou par embryons très-petits, reproduction dont je n'ai pas pu suivre les phases, mais qui me paraît rendue certaine par le fait que, de temps à autre, on trouve des individus extrêmement petits, globuleux ou plus souvent ovoïdes, très-pâles et délicats, d'un bleu clair et pur et ne renfermant pas ou presque pas de granulations, à raphé extrêmement étroit logé dans un large canal où vient se vider une vésicule contractile, et développant deux ou trois pseudopodes timides et extraordinairement fins (fig. 22). Ces petits êtres renferment un nombre en général restreint de noyaux, de 5 à 7 μ de diamètre, dont la structure est tantôt à peu près identique à celle que nous avons décrite comme typique, et tantôt un peu particulière, en ce sens qu'ils renferment 2, 3, 4, 5 nucléoles ovoïdes, accumulés en un petit tas sur le fond de l'enveloppe nucléaire, comme des œufs dans un nid (fig. 18 d).



Fig. 22. *Lieb. wageneri.* Individu très-jeune.

Ces petits organismes, qui au premier abord semblent représenter une espèce autonome et bien différente de celles que nous venons de décrire, se rapportent cependant sûrement à la *Lieberkühnia wageneri*, comme les transitions finissent bientôt par le montrer; mais ils ne peuvent pas résulter de parties

détachées d'un individu plus gros; ils portent avec eux tous les caractères du jeune âge, même parfois de l'embryon, que l'on ne serait pas étonné de voir muni d'un flagellum; mais, il faut le dire, ce flagelle ne s'est jamais montré, et il ne m'est pas possible de donner à ces appréciations d'autre valeur que celle d'une simple hypothèse.

Les deux protistes que nous venons d'étudier, *Lieberkühnia paludosa* et *L. wageneri*, ont été parfois considérés par les observateurs qui n'avaient en sous les yeux que l'un d'eux à l'exclusion de l'autre, comme ne représentant que deux formes d'une espèce unique; mais il n'en est certainement pas ainsi, comme on a pu s'en convaincre en lisant les pages précédentes, et comme le montrera cette brève récapitulation des principaux caractères différentiels:

Lieberkühnia paludosa.	*Lieberkühnia wageneri.*
Taille forte, 200 à 350 μ en moyenne.	Taille faible, 80 à 100 μ en moyenne.
Enveloppe relativement forte.	Enveloppe fine, très-claire.
Pseudopodes nombreux, en faisceaux vigoureux et serrés.	Pseudopodes peu nombreux, extraordinairement allongés, en ramifications lâches.
Un seul noyau, très-grand, ou bien plusieurs (rarement jusqu'à 30) plus petits, mais toujours de 20 μ au moins, et renfermant un certain nombre de nucléoles arrondis ou amœbiformes.	Noyaux très-nombreux (80 à 150 en moyenne dans les adultes), de 6 μ de diamètre, à nucléole normalement unique et hémisphérique.
Plasma opaque, rempli de granulations très-petites, rondes et jaunâtres.	Plasma limpide, à peine jaunâtre, renfermant un certain nombre de gros grains clairs et brillants, généralement ovoïdes.

(Aus dem Zoologischen Institut der böhmischen Universität Prag.)

Nachträge zu den Strukturverhältnissen von *Bacterium gammari* Vejd.

Von

Dr. Em. Mencl.

(Hierzu Tafel X.)

Es war im Jahre 1900 als Vejdovský seine überraschenden Entdeckungen an einem neuen, ziemlich großen symbiotischen Bakterium gemacht.[1]) Seit dieser Zeit, abgesehen von einer späteren, die Banverhältnisse der Bakterien näher besprechenden Mitteilung von Vejdovský, die über denselben Gegenstand, das *Bacterium gammari* nämlich, und ein anderes Fadenbakterium handelt,[2]) habe ich einige Aufschlüsse über den Bau und die Vermehrungsweise der symbiotischen, sowie auch einiger anderen, hauptsächlich aber der freilebenden Wasserbakterien geben können. Die Ergebnisse der Untersuchungen von Vejdovský waren, wie bereits erwähnt, von recht überraschender Natur, und es ist als recht erfreulich der Umstand zu bezeichnen, daß die bisherigen anderes Material betreffenden Untersuchungen sich in auffallender Weise mit dem decken, was

---

[1]) K ústrojnosti a vyvoji bakteril. Sitzungsber. d. böhm. Ges. d. Wissensch., Math.-naturwiss. Klasse, XXII 1900.

Bemerkungen über den Bau und Entwicklung der Bakterien. Bakteriol. Centralbl., Abt. II Bd. VI 1900 Nr. 18.

[2]) Nové zprávy o ústrojnosti bakterií, zvláště o ja'dru a jeho dělenl. Sitzungsbericht d. böhm. Ges. d. Wissensch., XLIII 1903.

Über den Kern der Bakterien und seine Teilung. Bakteriol. Centralbl., Abt. II Bd. XI Nr. 16/18 1904.

Vejdovský damals bei seinem recht merkwürdigen und äußerst interessanten Organismus beobachtet hat. Der Bau des *Bacterium gammari* stimmte in den Hauptzügen sowie in einigen Details vollkommen damit überein, was ich meinerseits bei den in dem Verdauungstraktus von *Periplaneta* vegetierenden Bazillen zu beobachten imstande gewesen bin.[1]) Die Verteilung des Protoplasma in den einzelnen Stäbchen, die Verteilungsweise der Körnchen und die Lage des Kernes, sowie der Bau derselben bilden die Punkte, in welchen man beide Bakteriengattungen vergleichen kann. Was die Vermehrung betrifft, so habe ich zwar einzelne Teilungsstadien bis in gewisse Grenzen bei den symbiotischen Bakterien im Darme des erwähnten Tieres verfolgen können — und zwar die schizogenetischen Vorgänge sowie die sporogenetischen. Das nähere Erkennen von intimsten Strukturverhältnissen des Kerns war mir nur oberflächlichst und auf eine ziemlich ungenügende Weise möglich — schuld daran sind die äußerst winzigen Dimensionen gewesen, so daß ich sogar mittels der recht scharfen Vergrößerung mit Zeiß' Apochromat-Immersion 2,0 nicht imstande gewesen bin, etwas Näheres in dieser Beziehung zu ermitteln.

Einen tieferen Einblick in die Organisation der Bakterien habe ich jedoch während der bei den Wasserbakterien angestellten Beobachtungen, die jedoch leider nicht zum vollen Abschlusse gelangten. gewonnen.[2]) Es handelte sich dabei um die Fadenbakterien und ihre Strukturverhältnisse, sowie die Vermehrung derselben. Was die Strukturverhältnisse, hauptsächlich des Zellkerns, betrifft, so habe ich ermittelt, daß der Kern im Ruhestadium einen ganz ähnlichen Bau aufweist, wie der Zellkern von Metazoen. In dieser Hinsicht muß ich mich entschieden gegen die Ansichten von Feinberg stellen; dieser fleißige Forscher verteidigt nämlich die Ansicht, daß der Protozoen- und Metazoenkern vom Grund aus ganz verschiedener Natur ist — was am klarsten aus dem Umstande hervorgeht, daß in dem Protozoenkerne die chromatische Substanz in einem kondensierten und nicht formierten Zustande vertreten ist, so daß der Protozoenkern ein homogenes Gebilde vorstellt, welches Aussehen des Zellkernes ein regelrechtes Charakteristikon bildet, von dem keine

[1]) Mencl: Další pozorování o struktuře a tvoření spor u symbiotických bakterií. Sitzungsber. d. böhm. Ges. d. Wissensch., Math.-naturwiss. Klasse, 1904. — Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien. Bakteriol. Centralbl., Abt. II Bd. XII 1904 Nr. 19/21.

[2]) Cytologisches über die Bakterien der Prager Wasserleitung. Mit 4 Tafeln. Bakteriol. Centralbl., Abt. II Bd. XV 1905 Nr. 17/18.

Ausnahme oder Abweichung möglich ist. Daß die Behauptung unzulänglich ist, ist schon längst für die Protozoen der verschiedensten Gattungen erwiesen — ich erwähne beispielsweise die bei den Sporozoen, wo sie mir am besten bekannt sind, und noch besser bei *Pelomyxa* herrschenden Verhältnisse. Und was speziell die Bakterien betrifft, so habe ich schon in meiner ersten Arbeit erwähnt (Bakteriol. Centralbl. Abt. II. Bd. XII. Nr. 19/21 p. 566), daß der Kern der Bakterien nicht immer ein homogenes Aussehen besitzt — sondern daß er nunmehr gekörnelten Inhalt zeigt. Ich habe l. c. gesagt: „In einer ganzen Reihe von Bakterienindividuen jedoch stellt der Kern keine homogene schwarze Kugel vor, sondern er erscheint etwas blasser, dafür aber gewöhnlich größer. Bei aufmerksamer Beobachtung läßt sich eine gewisse Struktur der Kernsubstanz bemerken, wie eine feine Granulierung, wo wahrscheinlich die dichte Chromatinmasse des Kernes in einzelne winzige Chromatinkügelchen zerfiel ... In einem Falle sehen wir die Chromatinsubstanz gegen eine Seite des Kernes orientiert, und dann sehen wir auf der entgegengesetzten Seite eine äußerst feine Kontur, die Kernmembran. Auch in anderen Fällen ist das Chromatin nicht über den ganzen Kern gleichmäßig verteilt, sondern auf gewissen Stellen angehäuft." Was ich also hier nur ausnahmsweise beobachtete, das ist später in einer höchst plausiblen und eindeutigen Weise zum Vorschein gekommen, nämlich bei den Wasserbakterien. Es haben dabei, wo es sich um die symbiotischen, in dem Darme der Küchenschabe vegetierenden Bakterien handelte, zwei Umstände eine große Rolle gespielt, die Kleinheit der Gattungen, und der Differenzierungsgrad des Heidenhain'schen Hämatoxylins; die Differentiation der Farbe bei solchen minutiösen Objekten ist begreiflicherweise eine der schwersten Aufgaben für einen Mikroskopiker und zwar um so mehr, als die Bakterien (so viel ich bis jetzt weiß, nur die symbiotischen), zwar sehr leicht die Farbe aufnehmen, dieselbe jedoch während der Differenzierung sozusagen jäh wieder aufgeben.

Diese Umstände sind hauptsächlich daran schuld gewesen, daß die Kerne meiner *Periplaneta*-Symbionten fast ausschließlich homogen erschienen. Bei den Wasserbakterien waren jedoch, wie erwähnt, die Verhältnisse anders. Dieses Material wurde nämlich in vivo gefärbt untersucht. Bei der vitalen Färbung nehmen die von mir benutzten Farben die Chromatinkomponenten des Bakterienkörpers fast ausschließlich auf, wogegen die anderen Bestandteile der Zelle entweder gänzlich, oder fast ganz ungefärbt bleiben. Auf diese Weise war es möglich — und es hat auch die Breite der

Bakterien, die, obzwar recht winzig, doch größer als die *Periplaneta*-Symbionten waren, und auch das hohe Brechungsvermögen des Bakterienkörpers im unfixierten Zustande mitgewirkt — die Struktur des Bakterienkerns bis in ziemlich feine Details verfolgen zu können. Es hat sich gezeigt, daß unter den normalen Verhältnissen und in den Hauptstadien der Zellkern eine als eine scharfe Kreislinie auftretende Membran besitzt, die das Chromatin in Form von Kügelchen enthält. Die Zahl derselben, sowie die Größe sind variabel. Manchmal findet man drei, manchmal vier und fünf Nukleolen in einem Kerne. Gewöhnlich übertrifft der eine die übrigen an Größe bedeutend. Erst dann, wenn die Teilung vorbereitet wird, ballen sich diese ruhenden Nukleolen zu zwei großen, auffallenden Chromosomen zusammen, die diametral in dem Kerne, knapp an die Membran gepreßt, zu liegen kommen.

Hier also fällt die Schwierigkeit der Differentiation, die die wahren Strukturverhältnisse der Zellkerne zu verdecken pflegt, vollkommen weg, dank der vollständigen Spezifizität der von mir angewandten Methode und dem elektiven Färbevermögen meiner Methylenblausolution für die chromatischen Bestandteile der Bakterienzelle in vivo.

Ich hielt es nicht für angebracht, die von mir beschriebenen *Periplaneta*-Symbionten von neuem der Untersuchung zu unterwerfen, um mich zu überzeugen, inwiefern die Strukturverhältnisse der Wasserbakterien mit denen der symbiotischen übereinstimmen oder von denselben abweichen, und zwar ihrer Kleinheit wegen. Um so lieber habe ich daher das liebenswürdige Entgegenkommen meines hochverehrten Chefs, Professor Vejdovský, benutzt, der mir nicht nur seine wertvollen Gammaruspräparate zu unbegrenzter Verfügung stellte, sondern auch in opferwilligster Weise einwilligte, die Präparate, die doch in ihrer Klarheit und Bedeutung bisher ein äußerst seltenes und wertvolles wissenschaftliches Unikum vorstellen, von neuem zu färben und zu differenzieren, und wenn es notwendig erscheinen sollte, auch anderweitigen Manipulationen zu unterziehen. Ich benutze diese Gelegenheit, Herrn Prof. Vejdovský meinen aufrichtigsten Dank für diese Liebenswürdigkeit an dieser Stelle abzustatten.

Die verhältnismäßig bedeutende Größe des *Bacterium gammari* und die damit zusammenhängende Erleichterung der Differentiation sowie auch der Beobachtung selbst haben mich in erster Reihe dazu gezwungen, die diesbezüglichen Präparate einer neuen Durchmusterung zu unterwerfen. In zweiter Reihe war es auch der Umstand, daß

mir bei weitem vollkommenere optische Hilfsmittel zur Verfügung standen, als es bei Gelegenheit der Untersuchungen von VEJDOVSKÝ der Fall gewesen — und auch die Erfahrungen, die ich während meiner eigenen Untersuchungen an den Wasserbakterien gemacht, ließen hoffen, daß es mir gelingen würde, einen tieferen Einblick in die Organisation der Symbionten (Parasiten?) des *Gammarus* von Garschinasee zu gewinnen.

Bevor ich die mir zur Verfügung überlassenen Präparate einer weiteren Differentiation unterzogen habe, habe ich sie gründlich durchstudiert. Ich habe gefunden, daß die Strukturverhältnisse der Bakterien, wie ich sie auf diese Weise gesehen, sich gänzlich mit dem decken, was VEJDOVSKÝ seinerzeit l. c. beschrieben und beobachtet hat. Einige kleinere Details, z. B. was die Plasmastrukturen betrifft, die ich zu seinen Aufschlüssen hinzufügen kann und auf die ich weiter unten näher einzugehen die Gelegenheit finden werde, sind bloß dank der besseren Analyse des gebrauchten Objektivs (ich habe durchwegs eine Zeis'sche Apochrom.-Immersion 1,5 benutzt) hervorgetreten.

Wenden wir uns zuerst zu den Strukturverhältnissen des Kerns. In seinen ersten Mitteilungen (l. c. 1900) spricht VEJDOVSKÝ auf Grund von hauptsächlich mittels Pikromagnesiakarmin gefärbten und mit Bleu de Lyon nachgefärbten Präparaten ausschließlich von ruhenden Kernen in den stäbchenförmigen Individuen von *Bacterium gammari*. Ich kann mich auch noch heute gut erinnern, daß damals, als mir unmittelbar vor dem Niederschreiben der betreffenden Mitteilung die Präparate demonstriert wurden, die Kerne wirklich eine kugelige Gestalt besaßen, die sich nie änderte. Alle Kerne besaßen damals ein homogenes, nicht weiter differenziertes Aussehen. Dieser Umstand fällt in die Wage, wenn man fragen würde, auf welche Weise FEINBERG die Überzeugung gewonnen, daß die Kerne der Protophyten und Protozoen ganz homogene Chromatinkörper vorstellen. Offenbar kommt es hier nur auf die Tinktionsmittel an, deren man sich bedient.

Daß es sich in allen Fällen um einen echten Zellkern handelt, wie VEJDOVSKÝ und ich beschrieben haben, das geht aus dem Umstande klar hervor, daß, wie schon VEJDOVSKÝ (1900 l. c. p. 585) treffend bemerkt hat, solche Körperchen, die im Gegensatze zu anderen verschiedenartigen Körnelungen „sich durch eine konstante Lagerung, sowie durch bestimmte morphologische und mikrochemische Eigenschaften, welche mit den der Kerne der Tiere und Pflanzen übereinstimmen“ auszeichnen und nebstdem „wenn in jedem Stäbchen

und in bestimmten Stadien des Lebens nur ein einziges färbbares Körpchen vorhanden wäre", daß also solche Körperchen unbedingt ohne weiteres für echte und wirkliche Zellkerne gehalten werden müssen. Und dies war auch bei dem *Bacterium gammari* der Fall.

Als man natürlich später dem in Rede stehenden Bakterium die Heidenhain'sche Eisenhämatoxylin-Methode, also eine Kernfärbung par excellence applizierte und als man gewissermaßen einen tieferen Einblick in die Organisation desselben gewonnen hatte, unterlag es keinem Zweifel mehr, daß das *Bacterium* einen echten Kern besitzt. trotz allen den den Kern der Bakterien durchaus negierenden Ansichten von Fischer, Migula und vielen anderen. Die Tatsache, daß es sich hier wirklich um einen echten Kern handelt, war so überzeugend und klar, daß es überhaupt nicht möglich ist, den Kerncharakter der in Rede stehenden Gebilde zu leugnen.

Ich habe schon in meiner weiter oben zitierten Abhandlung über die Bakterien der Prager Wasserleitung meine Verwunderung darüber ausgesprochen, daß man trotz allen neueren Befunden von Nakaniski und anderen bis auf Vejdovský und mich — doch fortwährend an dem unhaltbaren Dogma von dem Monerencharakter der Bakterien so hartnäckig festhält und alle die überzeugenden zahlreichen Erfahrungen neuester Zeit einfach ignoriert. Daß es der Wissenschaft keinen Nutzen bringen wird, habe ich bereits an dem Billet'schen [1]) Falle implicite demonstriert; man hat auch die vorzüglichen und äußerst wichtigen, den komplizierten Entwicklungszyklus der Fadenbakterien betreffenden Aufschlüsse des Genannten einfach ignoriert, obwohl es bereits Zopf gewesen ist, der zum ersten Male auf den Polymorphismus der Bakterien aufmerksam machte. Ich bin überzeugt, daß man noch lange warten wird, ehe man mittels der modernen Methoden und mit Hilfe der neuesten Erfahrungen und unserer heutigen Kenntnisse die genialen Studien von Billet ergänzen und für die Wissenschaft allgemein verwerten können wird. Ähnlich verhalten sich die Sachen mit dem Kerne der Bakterien. Ich habe bereits erwähnt, daß fast niemand es bisher versucht hat, den Kerncharakter der von Vejdovský beschriebenen Gebilde anders zu erklären. Bloß eine Stimme hat sich damals gegen die Ausführungen von Vejdovský erhoben; es war in einem Referate von Jahn in der Naturw. Rundschau. Die ebendaselbst enthaltenen Vorwürfe sind

[1]) Billet, A.: Contribution à l'étude de la morphologie et du développement on bactériacées. Bulletin de la France et de la Belgi ue publié par A. Giard. Sér. III T. XXI.

jedoch von solcher Natur, daß ich es für überflüssig halte, auf dieselben näher einzugehen. Bloß auf einen Umstand, der von Jahn als verdächtig benannt wurde, will ich reagieren. Jahn bezweifelt nämlich unter anderem auch wegen der „leichten Nachweisbarkeit des Kernes" die Zugehörigkeit des *Bacterium gammari* zu den Bakterien überhaupt. Man sage lieber die leichte Färbbarkeit des Kernes — denn es gibt eine kolossale Menge von Tatsachen, die heute leicht nachweisbar sind und sozusagen „alltäglich" geworden sind, die man lange und lange nicht erkannt hatte. Und das ist doch kein Beweis für die Unrichtigkeit dessen, was man erst mittels besserer Methoden entdeckt, und was lange und lange Zeit unbekannt gewesen ist.

Auch die Vermutung von Migula (1904), es handle sich überhaupt um keine Spaltspitze, sowie die von Grimme (Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, 1902), daß man das *Bacterium gammari* „zum Teil für Protozoen oder deren Entwicklungsstadien halten möchte" (p. 249), sind nicht zutreffend.

Der Umstand jedoch, warum Vejdovský beim *Bacterium gammari* und ich bei den im Verdauungstraktus von *Periplaneta* vegetierenden Bakterien ziemlich leicht den Kern entdecken konnten, verdient gewiß eine nähere Besprechung. Ich habe im XV. Band des Bakteriol. Centralblattes p. 546 gesagt: „Meine Versuche, die ich gemacht habe, um auch Dauerpräparate zu erhalten, haben nur wenig Erfolg gehabt und sind nicht zum Abschlusse gekommen. Die Methode, die ich in meiner am Anfange zitierten Arbeit angegeben habe, hat mir keine guten Dienste geleistet — ich glaube, daß es nicht die Fixation, sondern eher die Tinktion gewesen, die da fehlgegangen ist. Sonst bin ich überzeugt, daß man zum guten Resultate gelangen müßte, wenn man der Färbung irgend eine Beize vorausschicken würde . . ." An dieser Stelle habe ich von neuem das berührt, was ich schon bei der Gelegenheit meiner Untersuchungen über die symbiotischen Bakterien der *Periplaneta* vorausgesetzt. Sowohl Vejdovský, wie ich haben symbiotische (Vejdovský hält seinen Organismus für Parasiten, was hier offenbar nicht entscheidend ist) Bakterienarten vor uns gehabt, und dieser Umstand scheint mir die einzige Ursache der leichten Färbbarkeit des Kerns zu sein. Ich stelle mir nämlich die Sache so vor, daß in dem Falle von Vejdovský der lymphatische Körpersaft, in meinem Falle jedoch die Verdauungssäfte des Periplanetadarmes auf die darin lebenden Bakterien vielleicht wie eine Beize wirken, mindestens aber denselben eine ganz andere Beschaffenheit in chemischer Hinsicht verleihen, wofür auch die verschiedene Lebensweise solcher parasitischen oder symbiotischen

Arten gegen die freilebenden zu sprechen scheint. Ich habe übrigens schon im Jahre 1904 erwähnt, daß ich ziemlich klare Anfänge einer Kernfärbung schon mittels einfacher Karbolfuchsinmethode bei den durch Wärme fixierten und auf übliche bakteriologische Weise behandelten pathogenen Bakterien erhalten habe, wie z. B. beim *Bacterium typhi, diphtheriae, Bacillus tetani,* sowie nicht-pathogenen-*Bacillus megatherium, Spirillum rubrum, Bacillus subtilis* usw. Manchmal waren in den auf solchem Wege behandelten oder mit Methylenblau gefärbten Ausstrichen die Kerne leicht zu erkennen. Und in diesem Falle, wo es vollkommen ausgeschlossen ist, daß es sich um was anderes als Bakterien handeln könnte, könnte man doch desto eher von einer „leichten Nachweisbarkeit" der Kerne sprechen.

Wie ich weiter oben bemerkt habe, gleicht die Strnktur der Bakterienkerne im ganzen derjenigen der Kerne der höheren Organismen. Diesen Umstand habe ich auch an den vitalgefärbten Wasserbakterien klar beobachten können und habe damals auf meiner Tafel I, II Fig. 2*α*, 6, 10, 10a, 23, 25 usw., zahlreiche Beispiele dieser Verhältnisse abgebildet. Es handelte sich durchaus um bläschenförmige, mit einer kreisförmigen oder elliptischen scharfen Membran versehene Kerne, deren Inhalt aus verschiedener Anzahl, oder einer bestimmten Gruppe dunkel gefärbter Kügelchen zusammengesetzt war. Ich habe damals nachgewiesen, daß die ruhenden Kerne gewöhnlich eine größere Anzahl der betreffenden Kügelchen enthalten, in welchem Falle wir dieselben etwa Nukleoli zu nennen berechtigt sind, da an der Chromatinnatnr dieser Gebilde kein Zweifel bestehen kann. Was das *Bacterium gammari* betrifft, so sehen wir, daß auch hier gerade dieselben Verhältnisse herrschen wie dort. Betrachten wir z. B. unsere Fig. 1 *α*—*δ*, *ι* oder 7 *α* – *δ*, 8, 9, so erblicken wir gleich die mehr oder weniger deutliche Kernmembran, die gewöhnlich vier (*α*, *β*, *ι*), manchmal aber auch mehr (*γ*, *δ*) Nukleoli enthält; auch die gegenseitigen Größenverhältnisse der Nukleoli einerseits und des Diameters der Kerne andererseits unterliegen einer ziemlich großen Variabilität, so daß der Kern ein sehr verschiedenartiges Äußere zeigt. Abgesehen also von der variablen Anzahl der anwesenden Nnkleolen, sehen wir, daß immer zwei von denselben gleich groß sind (Fig. 1 *α*), das eine Paar jedoch bedeutend größer als das andere. Manchmal sind alle vier Nukleoli gleich groß (Fig. 1 *β*), welche Gleichheit auch dann vorhanden sein kann, wenn fünf Nukleoli anwesend sind

(Fig. 1 δ). In anderen Fällen sind diese Nukleoli nur annähernd gleich groß (Fig. 1 γ), manchmal aber sind die Größenunterschiede erheblicher (Fig. 8) oder recht auffallend (Fig. 4), wobei wieder nur einer die anderen an der Größe übertrifft und die übrigen gleich groß sind (Fig. 4 ε, ξ) oder zwei Nukleolen sind größer (Fig. 4 ϑ) usw. Die Variabilität hat hier ein freies Feld. —

Der äußere Eindruck ist auch, wie bereits erwähnt wurde, durch die Breite und die Deutlichkeit der Kernmembran bedingt. Indem der Durchmesser des Zellkernes ziemlich groß ist, dagegen die Nukleolen nicht allzu groß und knapp wandständig sind, so erscheint der Kern natürlich nicht so dicht, wie es der Fall ist, wenn die Sache entgegengesetzte Verhältnisse zeigt. Im ersteren Falle läßt sich leicht ermitteln, daß der Kerninhalt, die Nukleolen nicht hineinrechnend, ganz hyalin und durchsichtig ist, so daß der Kern im optischen Durchschnitte als eine weiße, klare kreisförmige Platte in dem graugrünen oder graugelben usw. — je nach der benutzten Protoplasmafärbung — centralen Plasma erscheint (Fig. 4 α, β, ε, ζ). In anderen Fällen dagegen, bei allzu großen Nukleolen und engem Kernbinnenraum, rücken die Nukleolen mehr oder weniger nahe aneinander, so daß sie sich sogar berühren und dem ganzen Kerne ein homogenes Aussehen verleihen können (Fig. 1 ε). Auch die Dicke der Kernmembran, oder mindestens die Färbbarkeit und die dadurch bedingte Deutlichkeit derselben ist recht variabel. Wenn die Kernmembran recht wenig auffallend wird, dann erscheint der Kern bloß als eine Gruppe von Chromatinkügelchen, die frei in der Zelle ohne jede Umgrenzung liegen (z. B. Fig. 1 ι, κ). Gewöhnlich aber erscheint die Kernmembran als graues, scharfes Reifchen, in dessen Inneren die Chromatinsubstanz zu liegen kommt. Sehr selten aber ist die Kernmembran tiefschwarz gefärbt, so daß dieselbe, was die Tinktion betrifft, den Nukleolen gleicht. Eigentümliche, jedoch äußerst selten vorkommende Figuren sieht man, wenn die Chromatinsubstanz etwas anders als in Nukleolen gruppiert ist, und wenn dabei gleichzeitig die Kernmembran undeutlich wird. Solche Beispiele sind an meinen Fig. 1 λ und μ veranschaulicht; im ersten Falle sehen wir einen Teil des Chromatins in zwei ziemlich große Nukleolen zusammengeballt, der andere Teil jedoch ist als eine halbkreisförmige Brücke zwischen beiden Nukleolen vorhanden. In dem zweiten Falle bilden die Nukleolen eine rosenkranzförmige gebogene Figur. Ich bemerke jedoch noch einmal, daß solche Verhältnisse nur sehr selten vorzukommen pflegen.

Aus dem eben Gesagten geht deutlich hervor, daß die wesent-

lichsten Bestandteile der Kerne von *Bacterium gammari* die Chromatinsubstanz in Form von Nukleolen variabler Größe und Anzahl, und die Kernmembran von variabler Deutlichkeit sind. Diese Verhältnisse stimmen auffallend mit dem, was ich für zahlreiche freilebende Wasserbakterien ermittelt, überein — und nicht nur das — sondern wir sehen, daß der Bakterienkern sich prinzipiell nicht von dem Kerne der höheren Wesen unterscheidet. Dieser Umstand ist nicht ohne besondere Wichtigkeit, hauptsächlich wenn man sich bemüht, wie ich weiter oben bemerkte, einen strengen Unterschied zwischen Protozoen- und Protophytenkernen einerseits und Metazoen- und Metaphytenkernen andererseits zu machen. Ich glaube, daß dieser Umstand dafür zu sprechen scheint, daß allen lebendigen Wesen derselbe gemeinsame Bauplan zugrunde liegt, oder aber, daß die Bakterien, wenn man dazu auch die komplizierte Vermehrungsweise in Rechnung zieht, keineswegs so niedrig stehende Organismen sind, wie man früher angenommen hat, und wie man es manchmal noch heute so haben will.

Bei der näheren Beobachtung und bei fleißiger Untersuchung zahlreicher Bakterien kommen wir bald zu der Überzeugung, daß die zwei bereits beschriebenen Kernkomponenten keineswegs die einzigen sind, sondern daß man noch eine Organelle als einen integrierenden Bestandteil des Kernes anzunehmen gezwungen ist. Man sieht nämlich entweder in der Nähe von Chromatinkugeln, wenn dieselben frei werden, oder aber an der Kernmembran einen schwarzen Punkt, dessen Farbton und seine regelmäßige Lagerung ihn recht deutlich von anderen jeweiligen Körnern in der Zelle gleich unterscheiden lassen. Wie ich schon oben hervorgehoben habe, enthält der ruhende Kern von *Bacterium gammari*, gleich den von mir an Wasserbakterien beschriebenen Bauverhältnissen, immer mehrere Nukleolen, mindestens aber drei. Wenn sich der Kern zur Teilung anschickt, dann bilden sich aus allen in dem Kerne eingeschlossenen Nukleolen zwei größere Chromatinkugeln, die wir einfach als Chromosome bezeichnen können. In den Vorstadien der Teilung kommen diese zwei Chromosome an die diametral gegenüberliegenden Punkte des Kerns zu liegen, wobei sie gleich den Nukleolen von der unveränderten Kernmembran eingeschlossen werden. Diese Verhältnisse scheinen also eine Regel für die meisten Bakterien und auch für das *Bacterium gammari* zu bilden. Bei diesem letzteren also sehen wir in höchst klarer Weise, daß sich an der Kernmembran ein Körperchen befindet, das gewöhnlich von beiden bereits gebildeten Chromosomen gleich weit entfernt ist, so daß, wenn wir

die Lage der Chromosomen als die äquatoriale bezeichnen, dieses Körperchen dazu den Pol bildet (Fig. 3 α, 4 α, 5, 6 β.) Dies ist auch in dem Falle, wo sich die beiden Chromosome bisher nicht im Äquator befinden, der Fall. Hier nimmt das Körperchen die Lage an der den Chromosomen gegenüberliegenden Seite, an der Kernmembran ein, und zwar dort, wo die gedachte Achse der Chromosome die Kernmembran schneiden würde (Fig. 7 β). Nur selten erscheint das Körperchen aus dieser Lage seitlich verschoben (Fig. 7 ξ), wobei auch gewöhnlich die Chromatinsubstanz eine außerordentliche Lagerung aufzuweisen pflegt (Fig. 4 η). Es unterliegt keinem Zweifel, daß dieses Körperchen zu dem Kerne gehört, wofür schon sein ausschließlich auf der Innenseite der Kernmembran konstatierbares Vorkommen spricht, sowie die weiteren Erscheinungen, die mit ihm verbunden sind und die Kerngestaltung in Mitleidenschaft ziehen.

Wenn wir die weiteren Stadien beobachten, so sehen wir, daß das betreffende Körperchen die Zellteilung einleitet, daß dasselbe also ein dem Centriol der Metazoenzellen analoges Gebilde vorstellt. Dieser Umstand sowie sein intranukleäres Wesen erlaubt uns, diese Organelle ohne weiteres mit dem Centralkorn zu vergleichen, wie sich dasselbe hauptsächlich bei Rhizopoden, Flagellaten und Sporozoen innerhalb des Karyosoms beobachten läßt. Ich werde daher das eben erwähnte Körnchen als Centralkorn bezeichnen. Daß ich an den Wasserbakterien nie dieses Gebilde beobachtet habe, kann ich mir nur so erklären, daß das Körperchen vielleicht vital unfärbbar ist, so daß es nicht zum Vorschein kommt.

Ich habe weiter oben gesagt, daß das Centralkorn erst dann erscheint, wenn die Chromatinsubstauz sich zu zwei großen Chromosomen zusammengeballt hat, und daß entweder das Centralkorn keine regelmäßige Lage zu den Chromosomen einzunehmen braucht, oder daß die Chromosome nicht immer die äquatorielle Lage in dem Zellkerne haben müssen. Ehe sich jedoch die weiteren Prozesse abspielen sollen, stellen sich die Chromosome immer in den Äquator (d. h., daß die Entfernung beider Chromosome die möglichst maximale, durch die Breite des Kernes bedingte ist), das Centralkorn aber stellt sich genau in die symmetrische Lage zu beiden Chromosomen, nämlich in den Pol des Kerns (s. Fig. 4 α, 6 β). In diesem Stadinm pflegt die ganze Figur mit ihrer Achse in die Längsachse der ganzen Zelle zu fallen, was jedoch in den späteren Stadien nicht der Fall ist.

Das Centralkorn strebt in dem folgenden Stadium von den beiden Chromosomen weg, wobei sich die Achse des Kerns mehr oder weniger umdrehen kann, so daß dann die Achse der Zelle nnd die Achse des Kerns, die durch das Centralkorn läuft, miteinander einen Winkel bilden, der einmal recht unbedeutend ist, manchmal aber bis 45° beträgt (Fig. 3β).

Indem sich also das Centralkorn von den Chromosomen entfernt, zieht es die Kernmembran auch mit, so daß dieselbe an dieser Seite zugespitzt erscheint, und in der Spitze liegt das Centralkorn (Fig. 3β, 6γ). Die Sache entwickelt sich weiter so, daß an dieser Stelle sogar ein spitzer Konus entsteht, dessen Basis die Chromosome, die Seiten die jetzt ganz gerade gestreckte, nicht mehr gebogene Kernmembranhälfte, den Scheitelpnnkt das Centralkorn bildet (Fig. 6ζ).

Bisher hat sich das Innere der Kerne nicht verändert — es ist fortwährend so klar und weiß, wie ich es weiter oben beschrieben, so daß es sehr auffallend mit dem graugefärbten (oder grün usw. gefärbten — je nach Plasmafärbung) Centralplasma kontrastiert. Nach diesem Zeitpunkte jedoch verdnnkelt sich das Innere der Kerne allmählich immer mehr nnd mehr und gleichzeitig geht auch das Lichtbrechungsvermögen der Kerne immer mehr verloren. Diese Erscheinnngen sind noch vom Schwunde der Kernmembran, die sich bisher unverändert erhalten hat, begleitet. Dieser Schwund der Kernumhüllung scheint seinen Anfang auf der Centralkornseite zu haben.

Wenn die Kernmembran völlig verschwunden ist, so läßt sich trotzdem der Kern seinem Farbton nach sehr gnt von dem umgebenden centralen Protoplasma anseinanderhalten. Das Protoplasma bleibt während der besprochenen Umwandlungen selbstverständlich keineswegs beeinflußt, so daß dasselbe seine Struktnr sowie seinen chemischen Charakter durchaus unverändert bewährt. Die achromatische Substanz dagegen nimmt eine ganz andere Beschaffenheit an; sie zeigt eine immer sich erhöhende Affinität zn dem angewandten Farbstoffe, dem Hämatoxylin. Auf diese Weise kommt man zu Bildern, wo der Kern etwa so ausschaut: In dem centralen Protoplasma wird eine dunkel gefärbte, homogen ansschanende Figur sichtbar, die dreieckig ist; die eine Seite des Dreieckes ist jedoch von einem Kreisbogen gebildet. In den drei Winkeln sind schwarze Körperchen gelagert, und zwar wird der Scheitelpnnkt des Dreieckes, durch das Centralkorn, die übrigen zwei Winkel durch die Chromosome eingenommen (Fig. 2α, 3δ, 6ξ).

Auf diese Weise wird also eine Art einpoliger Spindelfiguren bewerkstelligt. Die weiteren Schicksale solcher Figuren sind nnr sehr schwer zn erforschen. Man sieht nicht selten, daß sich von dem Centralkorn gegen die Chromatinsubstanz, und zwar zwischen die beiden Chromosome eine äußerst feine, recht dnnkle Achse hinzieht (Fig. 2 ε, 7 α, γ, ε). Was für Bedeutung dieses Gebilde besitzt, kann ich vorläufig nicht sagen — es wäre gewiß vorteilhafter, diese Sache an den vital gefärbten Bakterien zu studieren. Denn ich habe ähnliche Sachen an den Wasserbakterien sehr deutlich beobachten können, und habe ein Beispiel derselben l. c. auf meiner Tafel I, II, Fig. 2 δ (die dritte Zelle von unten) abgebildet. Inwiefern man diese Sachen vergleichen oder indentifizieren darf, kann man nicht entscheiden, um so weniger, wenn man von der Bedeutung des Ganzen keine Ahnung hat. Daß es sich um ziemlich ähnliche Gebilde handelt, wenn nicht sogar dieselben, das muß jedermann zugeben.

In seltenen Fällen (Fig. 2 δ, 6 δ) bin ich recht merkwürdigen Verhältnissen begegnet. Ich meine hier solche Figuren, wo die Kerne auffallend einer bipolaren Teilungsspindel ähnlich waren, indem die beiden Chromosome frei in dem Centralprotoplasma liegend, von zwei gleich großen, sehr feinen Körperchen flankiert waren, die von den Chromosomen beide gleich weit entfernt auf der gedachten Symmetrieachse gelegen waren. Zwischen den vier Punkten, den beiden Chromosomen nämlich und den zwei Polkörperchen ließ sich eine dunkle Färbung sehr deutlich wahrnehmen, welcher Umstand den Eindruck, daß hier eine regelrechte Teilungsspindel vorliegt, noch erheblicher verstärkte.

Auch in dem auf Fig. 6 ε abgebildeten Falle scheint eine bipolare Teilungsfigur vorhanden zu sein; diese Figur weicht von den eben besprochenen insofern ab, als hier von einem dunkler als das die ganze Figur umgebende Centralplasma gefärbten Spindelanteil keine Rede sein kann. Dafür aber scheint der Umstand von besonderem Interesse zu sein, daß beide Pole, die zwei äußerst feine schwarze Punkte vorstellen, durch einen sehr feinen schwarzen Faden verbunden sind, der mit dem oben erwähnten, in den eben besprochenen unipolaren Figuren vorkommenden seltenen Achsenfaden ohne weiteres verglichen werden kann. Auch hier ist mir die Bedeutung des fraglichen Gebildes vollkommen dunkel geblieben.

Die gerade erwähnten „Achsenfäden" kommen freilich nnr selten vor, und dann endigen sie immer an den Centralkörperchen.

Nur einmal ist es mir gelungen, einen ähnlichen Faden unter ein wenig veränderten Umständen zu beobachten. In diesem letzteren Falle handelte es sich um eine unipolare Figur (Fig. 3γ). Die chromatische Substanz erscheint hier als ein kontinuierlicher Streifen, ein Umstand, auf den ich weiter unten näher einzugehen die Gelegenheit finden werde. Auf der einen Seite dieser Chromatinpartie liegt das Centralkorn. Von dem Centralkorn ziehen sich zwei feine Konturen zu den Seitenpunkten der chromatischen Substanz hin — gewiß die Reste der Kernmembran vorstellend. Auf der anderen Seite von der Chromatingruppe jedoch sehen wir eine dunkler als das umgebende centrale Protoplasma gefärbte Linie, die einerseits an die Mitte des Chromatinstreifens anknüpfend, an dem anderen Ende frei in das centrale Protoplasma hineinragt, um ganz selbständig, ohne daß man irgendein Körnchen konstatieren könnte, in dem Protoplasma zu endigen.

Dieser Befund scheint mir dafür zu sprechen, daß ähnliche Achsen in der Wirklichkeit öfters vorkommen, als man sie zu Gesicht bekommt, und daß es nur ihre eigentümliche chemische Beschaffenheit verursacht, daß sie nur selten zum Vorschein gelangen, indem sie vielleicht nur selten die Farbe länger als die benachbarten Komponenten zu behalten pflegen.

Die eben beschriebenen Stadien, die also unleugbare Teilungsvorstadien sind, sind die letzten, die man beobachten kann. Irgendwelche weitere Ausbildung der Spindelchen etwa zur Teilung der Chromosomen in Tochterchromosome, wie es mir bei den freilebenden Wasserbakterien gelang, zu entdecken, ist mir keineswegs gelungen, so daß ich unmöglich weitere Stadien zu beschreiben sowie nähere Aufschlüsse über das Geschick der spindelförmigen Kerne abzugeben imstande bin.

Auf diesen Umstand hat bereits Vejdovský (l. c. 1904) aufmerksam gemacht. Er spricht sich über diesen Punkt in folgender Weise aus (S. 487): „Es ist zwar möglich, daß die Bakterien zu gewisser Zeit, noch während des Aufenthaltes in der Hämolymphe, sich durch diesen Teilungsakt zu ermehren vermögen. Aber weitere Stadien der Teilung sind mir nicht bekannt, und es ist nur so viel wahrscheinlich, daß diese ersten Spindelstadien eine lange Zeit im Zustande der Ruhe verweilen.“ Vejdovský bemerkt weiter, daß ähnliche „ruhige Spindeln“ auch von anderen Objekten bekannt sind, so z. B. von Doflein bei *Noctiluca*. Ich habe mehrere Gründe zur Annahme, daß unser *Bacterium* einen komplizierteren Entwicklungskreis durchmacht, wobei sich der eine Teil desselben in unserem

Gammarus zschokkei in verschiedenen Jahreszeiten, der andere aber in irgendeinem anderen Wirte, etwa in einem sich von den Gammari ernährenden Fische abspielt. Es wäre also wünschenswert und auch unentbehrlich, wenn man die Vermehrungsweise des *Bacterium gammari* erforschen sollte, die Sache an Ort und Stelle zu verfolgen.

Wie wir gesehen, stimmen in den Grundzügen die Verhältnisse des Kerns und dessen Komponenten mit meinen aus den Wasserbakterien gewonnenen Aufschlüssen vollkommen überein. Es gibt nur wenig Unterschiede — abgesehen natürlich von dem bereits weiter oben erwähnten Umstande, die Anwesenheit des Centralkorns bei dem *Bacterium gammari* betreffend.

Von den Aufschlüssen, die uns Vejdovský in seiner zweiten, unseren Gegenstand behandelnden Publikation gibt, weicht in der meritoren Seite die vorliegende Mitteilung nicht ab — und wenn sich in den Details andere Bilder darbieten, so ist daran die Überfärbung der Präparate und Mangel an Differenzierung schuld, wie ich's schon anfangs bemerkt habe.

Meine beiliegenden Figuren, z. B. die Fig. $2\gamma, \eta$, sowie 3γ ererinnern in höchst auffallender Weise an die von Vejdovský im Jahre 1904 reproduzierten Abbildungen, z. B. seine Fig. 3, 4, 5. In diesen Fällen, sowie in den meinigen eben angeführten drei anderen bildet die chromatische Substanz einen ganz zusammenhängenden Streifen, der einer „äquatorialen Platte“ vollkommen gleicht. Solche Bilder lassen sich bei Vejdovský aus dem erwähnten Umstand, aus der mangelhaften Differentiationsstufe leicht erklären — in meinem Falle kommen jedoch solche Figuren nur äußerst selten vor, was ein Zeugnis dafür gibt, daß alle Kerne keineswegs dieselbe Affinität zum Farbstoffe besitzen, so daß auch bei maximalster Farbenentziehung, doch einige der Kerne überfärbt bleiben. Ich glaube, daß in dieser Beziehung der allgemeine chemisch-physiologische Zustand einzelner Zellen eine ziemlich große Rolle, wenn nicht die einzige, spielt — eine Ansicht, die ich schon früher ausgesprochen habe.

Daß diese erhöhte, oder wenn man will, die veränderte Affinität zum Farbstoffe, in unserem Falle speziell zum Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, nicht nur den zur Teilung vorbereiteten und in einer einpoligen Figur sich befindenden Kernen eigen ist, sondern daß dieselbe Eigenschaft auch für andere Stadien gültig ist, dafür scheint meine schon einmal besprochene Fig. 1λ zu sprechen; es ist nicht unrichtig, die in diesem Stäbchen vorkommende, zwischen beiden großen Nukleolen befindliche und aus Chromatinsubstanz ge-

bildete Verbindungsbrücke für zwei oder mehrere kleinere und überfärbte Nukleolen zu halten, die gerade der Überfärbung wegen eine zusammenhängende Masse vortäuschen. Diese Annahme wird noch mittels der ähnlichen, jedoch weiter differenzierten Kernfigur. Fig. 1 μ, kräftig unterstützt, denn wenn man sich die Einschnitte zwischen den einzelnen hier vorkommenden Nukleolen durch die überschüssige Farbe ausgefüllt vorstellt, wie es während der Überfärbung der Fall ist, so kommen wir direkt zu den in Fig. 1 λ abgebildeten Verhältnissen.

Was das Vorkommen des Centralkorns betrifft, so finde ich bei Vejdovský keine Erwähnung, aus welcher man schließen könnte, daß auch er ein ähnliches Gebilde beobachtet hat. Daß es jedoch trotzdem der Fall gewesen ist, das schließe ich aus seiner Fig. 4, wo er in dem Kerne außer eines Chromatinäquators, noch ein polständiges Körperchen zeichnet, dessen Dimensionen jedoch mir zu groß im Verhältnis zu meinen Centralkörnern erscheinen. Dieser Umstand jedoch spricht auch unter anderem, wenn es sich natürlich wirklich dabei um ein Centralkorn handelt — und es scheint so, für die erwähnte Überfärbung, die die Präparate damals durchwegs gezeigt haben.

Außer den eben beschriebenen Stäbchen, die die Mehrzahl bilden und in welchen der Kern immer genau die Mitte einzunehmen pflegt, finden wir andere Gebilde, wo der Kern polständig ist, mindestens aber excentrisch gelegen. Ich habe auf meinen Fig. 12—15 der beiliegenden Tafel einige solche Beispiele abgebildet. Wir sehen, daß alle diese Formen eine elliptische oder ovoide Gestalt besitzen, viel kürzer, dafür aber viel breiter sind als die Stäbchen, mit denen wir uns bisher ausschließlich befaßten. Die Kernverhältnisse sind nur wenig von den der Stäbchenform abweichend. Auch hier begegnen wir manchmal einer deutlichen Kernmembran, die entweder zwei (Fig. 13 a, b) oder mehrere (Fig. 15 α) chromatische Körperchen in sich eingeschlossen hält. In manchen Fällen jedoch ist die Chromatinsubstanz durch sehr deutliche Kugeln repräsentiert, die ohne jeweilige Kernmembran frei in dem Protoplasma liegen können (Fig. 14). Diese Gebilde stimmen auffallend in jeder Hinsicht mit dem überein, was ich in meiner öfters schon citierten Arbeit über die Wasserbakterien beschrieben, und l. c. Taf. 3, 4, Fig. z. B. 53, 47 usw. abgebildet habe.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese ovalen Gebilde entweder von außen, vielleicht von dem anderen hypothetischen Wirte in den *Gammarus* hineingelangt sind, so daß dieselben den End-

punkt der einen sich außerhalb des *Gammarus* abspielenden Hälfte des Entwicklungscyklus, sowie gleichzeitig den Ausgangspunkt der Lebensperiode im *Gammarus* bilden. Es läßt sich zwar nicht direkt beweisen, jedoch aus gewissen Erscheinungen läßt sich ahnen, daß sich diese Gebilde allmählich in dem *Gammarus* zu einer regelmäßigen Stäbchenform umwandeln. Es bestehen folgende Gründe zu dieser Annahme:

Was erstens die Kernverhältnisse betrifft, so habe ich dieselben im vorher Gesagten ziemlich eingehend geschildert. Die Strukturverhältnisse des Kerns sind, die Teilungsvorstadien natürlich ausgenommen, in der Stäbchenform fast dieselben, wie die bei den eben zu besprechenden ovalen Stadien. Was jedoch am meisten auffällt, ist die Lage des Kerns, die streng centrale in der Stäbchenform, die excentrische bis randständige in der ovalen Form.

Die centrale Lage des Kerns in der Stäbchenform ist konstant und läßt keine Ausnahme gelten. Nicht so aber sind die Verhältnisse bei der anderen Form. Hier sehen wir den Kern einmal an der Spitze dicht am Rande der Zelle liegen, andere Male aber weit entfernt von demselben (Fig. 13b, 12). Es scheint, als ob der Kern gegen die Mitte der Zelle wanderte, um hier endlich eine definitive Lagerung einzunehmen. Auf diese Weise ließen sich solche Zellen erklären, die im Vergleiche mit der regelmäßigen Stäbchenform viel kürzer, dagegen aber gleichzeitig auffallend breit sind — dabei aber, was die innere Anordnung der Zellbestandteile betrifft, mit der Stäbchenform fast ganz übereinstimmen (Fig. 12*β*).

Was den Zeitpunkt betrifft, wann sich die Chromatinkugeln der ovalen Zellen mit einer Kernmembran umgeben, so muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß derselbe recht unbestimmt ist. Denn wir begegnen einmal einer Kernmembran schon während der äußerst excentrischen Lagerung des Kerns am Rande der Zelle (Fig. 13a, 15*α*), andere Male während der mittleren Lage zwischen dem Rande und der Mitte (Fig. 13b), oder aber endlich erst während der centrischen Lage, wie es in der Fig. 1*ε* veranschaulicht ist, denn das hier abgebildete Individuum kann ohne weiteres mit dem in Fig. 12*β* abgebildeten verglichen werden. Dasselbe gilt auch von der Zelle Fig. 1*β*.

Es ist nicht ohne jedes Interesse, auf welche Weise der anfangs randständige Kern weiter in das Innere der Zelle gelangt. Als Anfangsstadien sind solche zu bezeichnen, wo die ganze Zelle, eine Membran besitzend, aus einem sehr dünnen Protoplasmastreifen besteht, der sich an der Wandung hinzieht und in dem an einer etwas

dickeren Stelle an einem Pole der Kern liegt (Fig. 14). Den größten Teil des Zellinhaltes nimmt eine riesige Vakuole ein, die manchmal noch von einem sehr feinen Protoplasmastreifchen überbrückt werden kann (Fig. 15α). In dem weiteren Verlaufe bilden sich an beiden Polen mehrere Alveolen, die sich fortwährend vermehren (Fig. 13b), bis sie das ganze Innere der Zelle einnehmen (Fig. 14, 15β, 13a) und den ursprünglichen großen Binnenraum erfüllen. Und in diesem neugebildeten Protoplasma wandert der Kern weiter gegen die Mitte der Zelle hin (Fig. 12α, 13b).

Angenommen, daß also wirklich, wie aus dem eben Gescbilderten sehr wahrscheinlich erscheint, aus diesen ovalen Formen die Stäbchen durch ziemlich einfache innere Prozesse und dann durch die Formveränderung entstehen, dann könnte man sich nicht wundern, daß auch die Stäbchen keineswegs alle gleich lang sind und dieselbe Form besitzen. Wir begegnen manchmal recht großen nnd mächtigen Exemplaren, manchmal wieder finden wir recht lange aber sehr dünne (Fig. 6α, δ, 3δ) Zellen. Manche besitzen genau parallele seitliche Wände, andere sind dagegen in der Mitte schwach verjüngt, daß sie eine leicht biskuitförmige Gestalt annehmen (Fig. 4α, 2γ usw.). Solche Formen, die Jahn in seinem Referat abgebildet, die in der Mitte stark eingeschnürt sind (Fig. 8), gehören zu den äußersten Seltenheiten, und es kommen solche in dem Verhältnis etwa 1/3000 vor.

Außer den bisher besprochenen zwei Formen kommt noch eine andere auch von Vejdovský erkannte Form vor. Es sind die in einer Cyste steckenden gewöhnlich gebogenen, manchmal jedoch auch ziemlich geraden Stäbchen, die aber anfangs sehr kurz sind, um erst später zur normalen Länge emporzuwachsen. Vejdovský nennt dieselben Keime, die encystiert sind, und zeichnet ihr Protoplasma als homogen, indem er annimmt, daß in diesem Stadium das Protoplasma „bisher nicht differenziert ist“. Ich habe auf der beiliegenden Tafel ziemlich zahlreiche Beispiele solcher Individuen durch die Fig. 9, 18—22 veranschaulicht.

Man sieht auf den ersten Blick, daß diese Gebilde dieselben Strukturverhältnisse aufweisen, wie die übrigen Formen. Wir begegnen hier einem normal gebauten Kerne, der auch hier eine deutliche Membran zu besitzen pflegt (Fig. 21, 19), ja manchmal ist auch das Centralkorn zu konstatieren (Fig. 19, das erste Stäbchen von rechter Seite). Das Protoplasma ist einmal peripherwärts an den Seiten um die Membran herum orientiert, in der Mitte, wo der Kern liegt, begegnen wir einem centralen Protoplasmaanteil (Fig. 20).

Beiderseits also vom Kerne befinden sich zwei große Vakuolen. Diese Vakuolen können manchmal durch mehr oder weniger zahlreiche Plasmabrücken auf mehrere Vakuolchen zerteilt werden (Fig. 19, 21). Nur selten finden wir eine sehr zarte wabige Struktur in diesen Stadien (Fig. 22, die hinteren drei, resp. vier Zellen).

Dieselben Verhältnisse herrschen auch bei den zuerst besprochenen Stäbchen. Bei diesen habe ich, hauptsächlich dort, wo das centrale Protoplasma reich genug vorhanden ist, und wo die Differentiation des Farbstoffes ziemlich weit vorgeschritten ist, auch nicht selten eine ausgesprochen wabige Struktur beobachtet (Fig. 4 *δ*). Auch in dem Protoplasma läßt sich sehr oft die wabige Struktur erblicken, ja dort, wo die Seitenvakuolen nicht vorkommen, kann sogar das ganze Stäbchen von zahlreichen Protoplasmaalveolen ausgefüllt sein (Fig. 3 *a*). Sonst aber sind auch sehr zahlreich die einfachen Querbrücken vertreten und zwar in allen Formen und Modifikationen (Fig. 1).

Was speziell die encystierten Formen betrifft, so bin ich nicht imstande, etwas Näheres über ihre Bedeutung zu ermitteln. Daß es sich wirklich um encystierte Stäbchen handelt, und nicht etwa um Artefakte, die so entstanden sind, daß die Zellenmembran aufgequollen ist, dafür sprechen außer anderem auch die Querschnitte durch dieses Stadium, wo wir eine deutliche doppelte Konturierung des Ganzen sehen können (Fig. 9), was sich sehr auffallend von den Querschnitten der gewöhnlichen Stäbchen unterscheidet (Fig. 3 *ε*).

Es sei mir noch erlaubt, über die in den Zellen aller Arten vorkommenden Körnelungen einiges zu bemerken. Ich habe bereits bei meinen weiter oben angeführten Beobachtungen an den symbiotischen Bazillen darauf aufmerksam gemacht, daß wir notwendigerweise mindestens zwei Arten von Körperchen unterscheiden müssen. Ich habe damals darauf hingewiesen, daß sich fast in allen Zellen zwei größere, tief gefärbte Körnchen befinden, die in dem Centralprotoplasma in gleichen Entfernungen vom Kerne, beiderseits desselben zu liegen kommen (l. c. Fig. 1 f, g, m, Fig. 6 a usw.) Diese Körnchen sind meistens also durch ihre Größe, regelmäßige Lage, sowie auch durch den Farbton charakterisiert und sind von anderen, unregelmäßig zerstreuten, winzigen Körnchen verschieden. Diese zweite Kategorie bin ich geneigt für die Babes-Ernst'schen metachromatischen Körperchen zu halten.

Bei dem *Bacterium gammari* sind ebenfalls zwei Gattungen von Körnelungen auseinander zu halten. Von dem Centralkorn kann an dieser Stelle keine Rede sein, da dasselbe eine dem Kern eigene

Organelle ist, die das dynamische Element der ganzen Zelle vorstellt. Es handelt sich nunmehr bloß um die in der übrigen Zelle zerstreuten Körnchen.

Die erste Kategorie sind diejenigen Körnchen, die im Protoplasma liegen, indem sie entweder an beiden Enden der Plasmabrücken nahe an der Körperwand gelegen sind (Fig. 1α, μ), oder an den Ecken der Wabenwände (Fig. 4γ), oder sonst frei an beliebiger Stelle des peripheren sowie des polständigen Protoplasma (Fig. 1, 2, 4 usw.). Die Zahl derselben ist recht verschieden — sie kommen manchmal auch massenhaft in einzelnen Zellen vor (z. B. Fig. 1ε). Ihre Tinktion ist eine tiefschwarze, ihr Brechungsvermögen sehr gering.

Dagegen sind die Körperchen der anderen Art nie im Protoplasma gelagert, sondern sie befinden sich in den Vaknolen oder Waben, in jeder solchen gewöhnlich vereinzelt. In solchem Falle pflegen sie gewöhnlich die Mitte der Alveole einzunehmen (Fig. 7α, ξ). Manchmal sind sie aber vermehrt, so daß sie in den Waben je zu zwei oder mehr vorkommen (Fig. 7α, γ, ε). Diese Gebilde sind größer als die eben beschriebenen protoplasmatisch orientierten und erscheinen nie so schwarz, sondern dunkelbraun und stark lichtbrechend, so daß sie bei der Bewegung der Mikrometerschraube des Mikroskops als leuchtende Tropfen erscheinen und verschwinden.

Am auffallendsten sind sie, und zwar durch ihre ungeheuere Größe, bei den schon oben beschriebenen ovalen Formen, hauptsächlich bei solchen, die ich für jünger halte und die eine große Vakuole besitzen. In solchen Fällen nehmen sie als ziemlich große lichtbrechende Kugeln oder besser Tropfen die Mitte der Wabe ein und fallen gewöhnlich bei der Beobachtung mehr auf als die Kerne selbst (Fig. 13a, b).

Was die Deutung beider Arten von Körnchen betrifft, so weisen die erwähnten Eigenschaften derselben darauf hin, daß es sich bei den ersten vielleicht um verdichtete Plasmapartikelchen handelt, die mit den sog. Mikrosomen zu vergleichen sind, bei den anderen aber um die Assimilationsprodukte. Für diese Ansichten sprechen folgende Umstände:

Die schwarzen kleinen Körnchen der ersten Kategorie liegen, wie erwähnt, immer in dem Protoplasma; wenn dieselben in solchen Zellen vorhanden sind, die nur zwei Vaknolen enthalten, ohne weitere Differenzierungen (in Querbrücken oder Waben) als das periphere und centrale Protoplasma zu zeigen, dann sind diese Körnchen am zahlreichsten vorhanden, und sitzen immer an dem der Vakuole zu-

gekehrten Rande des Protoplasma, also immer dort, wo die Brücken hervorwachsen müssen (Fig. 2δ). Auch die Orientierung in den mit komplizierteren Banverhältnissen versehenen Zellen spricht dafür — nnd nicht in letzter Reihe auch der Umstand, daß diese Körperchen in den alveolar gebanten Zellen minder auffallend (Fig. 4γ) und weniger tief gefärbt sind, sowie daß sie in den Zellen, wo ein dichtes Wabenwerk erscheint, überhaupt nicht vorhanden sind (Fig. 12β).

Die anderen lichtbrechenden Körperchen werden dagegen in die Vakuolen ansgeschieden, sie sind groß, halbflüssig nnd erinnern lebhaft an verschiedenste Exkretionskörner in den exkretorischen Drüsenzellen der niederen Tiere.

Das eben Gesagte stellt nur eine Vermutung vor — etwas Sicheres läßt sich selbstverständlich vorderhand nicht sagen.

Ich habe schon früher betont, daß die Strukturen der Bakterien, die Vejdovský und ich zu Gesicht bekommen haben, gewiß allen anderen Bakterienarten als eigen erscheinen werden — höchstens mit gewissen unerheblichen Variationen. Ich habe deutliche Spuren von Kernen schon bei der Gelegenheit meiner Untersuchnngen über die Symbionten der Küchenschaben bei den verschiedenen Bakterien gefunden — neuerdings ist es mir wieder gelungen, in zwei Sekreten während der Konjunktivaentzündung (bei zwei Personen) Bakterien mit deutlichen Kernen schon in mit Karbolfuchsin gefärbten und weiter differenzierten Ausstrichen zu finden. Ich werde hoffentlich noch einmal die Gelegenheit finden, auf diese Befnnde von nenem einzugehen. Vorläufig will ich nur auf zwei Bakterienarten anfmerksam machen, die sich in Cysten zu Tausenden und Abertausenden beisammen in nnserem *Gammarus zschokkei* befinden und hier und da anch frei in dem Körper desselben Krebses zu finden sind.

Diese beiden Arten sind sehr winzig — die erstere ist länger als die andere und besitzt zahlreiche Plasmabrücken, was bei der anderen Art nicht der Fall ist. Manche von diesen Stäbchen sind gebogen — alle aber besitzen in dem Mittelpunkte einen äußerst auffallenden tiefschwarzen Kern (Fig. 23).

Die andere Art ist kürzer, besitzt keine inneren Plasmastrukturen (insofern man überhaupt die Strnkturverhältnisse bei einem so winzigen Objekte zu überblicken imstande ist), dagegen aber eine deutliche polare Plasmaanhäufung („Polfärbung") und einen wieder äußerst auffallend ausgeprägten Kern (Fig. 24).

Der Durchmesser des Kerns ist kleiner als die Breite der Zelle selbst — seine Lage ist dabei nicht eine centrale, sondern eine ex-

centrische, und zwar so, daß der Kern zwar in der Mitte der ganzen Länge des Stäbchens liegt, dabei aber zu einer Längsseite verschoben ist. Es sind dies dieselben Verhältnisse, wie ich sie schon für die in dem Darme der Küchenschabe lebenden Bazillen ermittelt habe. Auch dieser Umstand spricht für die Uniformität in dem Baue der Bakterien in einer sehr klaren Weise.

Die vorliegenden Abbildungen sind sämtlich mittels einer Zeiß-Apochrom.-Immers. 1:5 und Oc.-Comp. 8 verfertigt worden.

Prag, den 25. März 1906.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Die physiologische Degeneration der *Amoeba proteus.*

Von

Hans Prandtl.

(Hierzu Tafel XI und 2 Textfiguren.)

Gelegentlich einer Demonstration von *Amoeba proteus* in der Vorlesung des Wintersemesters 1905/06 fiel Herrn Prof. Hertwig das dunkle Aussehen sowie die geringe Beweglichkeit der Tiere auf. Bei der Fixierung mit konzentrierter und 2 proz. Pikrinsäure bildeten sich überall im Plasma der Amöben lange Kristallnadeln, die beim Auswaschen in Alkohol oder bei längerem Liegen in der Konservierungsflüssigkeit wieder verschwanden. Es handelte sich, wie die Untersuchung ergab, mit größter Wahrscheinlichkeit um Pikrinkristalle, deren Entstehung durch eine starke Wasser absorbierende Kraft des Amöbenplasmas zu erklären ist. Einen analogen Vorgang konnte Herr Prof. Hertwig schon früher bei *Actinosphaerium* (03) an Kulturen beobachten, die schon längere Zeit gezüchtet waren. Bei gesunden Amöben konnte ich die Kristallbildung nicht konstatieren: auch bei *Actinosphaerium* ist sie nomalerweise nicht vorhanden. Gefärbt zeigten die Amöben ganz merkwürdige Kernformen, die ungewöhnliche Vorgänge vermuten ließen. Herr Prof. Hertwig hatte die Liebenswürdigkeit, mich auf die Tiere, die einer stark besetzten Amöbenkultur des Münchener Institutes entstammten, aufmerksam zu machen, wofür ich ihm hiermit meinen herzlichen Dank aussprechen möchte.

Die genauere Untersuchung der Kultur ergab die Tatsache, daß die Tiere an einer typischen Degeneration litten und außerdem teilweise von Gameten bildenden Parasiten befallen waren. Das Zusammentreffen der beiden, an und für sich voneinander unabhängigen Prozesse erkläre ich mir dadurch, daß die durch die Degeneration geschwächten Amöben den Angriffen der Parasiten leichter erliegen mußten als kräftige, gesunde Tiere.

Nachdem ich die Degeneration an der einen, gleichzeitig von Parasiten befallenen Kultur hatte verfolgen können, fand ich sie im Laufe des Wintersemesters 1905/06 noch in weiteren zwei Aquarien des Münchener Instituts, deren Inhalt aus ganz verschiedenen Tümpeln, sogar aus verschiedenen Flußgebieten stammte und im Herbst 1905, also gegen Schluß der Vermehrungsperiode der meisten freilebenden Süßwasserprotozoen, gesammelt war. Indem nun die Tiere durch die gebotenen günstigen Vermehrungsbedingungen zu weiteren Teilungen veranlaßt wurden, gingen sie ihrer physiologischen Degeneration entgegen, wie sie bereits bei Infusorien (Hertwig (99)[1]), Calkins (02)[2]) und Heliozoen (Hertwig (04)[3])) beschrieben wurde. Die letztgenannten zwei Kulturen, welche das hauptsächlichste Material zur Untersuchung der Degeneration lieferten, waren vollkommen frei von jedem Parasitismus. Hiermit dürfte wohl die Unabhängigkeit beider Prozesse erwiesen sein.

Da meine Untersuchungen über den Entwicklungskreis des Parasiten bisher noch zu keinem befriedigenden Resultat führten, möchte ich vorerst nur die Degeneration von *Amoeba proteus* kurz darstellen. Da die Degeneration bei Protozoen bereits mehrfach sehr eingehend untersucht wurde und keine im Prinzip neue Sache mehr bedeutet, dürfte es genügen, die hauptsächlichsten Stadien zu besprechen.

In betreff des normalen Habitus des Kerns von *Amoeba proteus* kann ich die Angabe von Calkins (98)[4]), das Chromatin befinde sich im peripheren Teil des Kerns, während die Mitte von einer homogenen, mit Eisenhämatoxylin grau färbbaren, besonderen Masse

---

[1]) Was veranlaßt die Befruchtung der Protozoen? Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München 1899.

[2]) Studies on the life history of Protozoa. I. Arch. Entwicklungsmech. Bd. V. II. Biol. Bull. of the Marine Biol. Labor. Woods Hall, Mass., Bd. III.

[3]) Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium eichhorni*. Festschr. f. Haeckel, 1904.

[4]) The phylogenetic significance of certain protozoan Nuclei. Ann. of the New-York Acad. of Sc. Bd. XI 1898.

eingenommen werde, nicht bestätigen. Wie CALKINS annehmen kann, GRUBER (83)[1]) habe bei *Amoeba* (die übrigens gar nicht *Amoeba proteus* zu sein scheint) denselben zentralen Körper gesehen, ist mir unbegreiflich, da doch GRUBER deutlich einen chromatischen Nukleolus beschreibt und abbildet. SCHUBOTZ (05)[2]) beschreibt zweierlei Kernformen von *Amoeba proteus*, entweder sind die Chromatinkörnchen im ganzen Kern unregelmäßig verteilt, oder er enthält eine chromatische Zone unmittelbar unter der Membran und einen großen zentralen Binnenkörper von wabiger Struktur mit zahlreichen eingestreuten chromatischen Körnchen; letztere Angabe deckt sich mit der von GRUBER. Meine degenerierenden Amöben zeigten meist diesen zweiten Kerntypus als Ausgangsstadium, doch erhielt ich auch Kernformen wie die von CALKINS beschriebenen und für *Amoeba proteus* als typisch bezeichneten. Ich glaube nicht, daß man wegen der Verschiedenheiten der Kernformen an der Zugehörigkeit der Tiere zur Spezies *Amoeba proteus* zu zweifeln braucht; zeigen doch die HERTWIG'schen Abbildungen der Kerne von *Actinosphaerium eichhorni* (04) zur Genüge, wie sich Kernstrukturen im Laufe einer längeren Kultur zu verändern vermögen. Zur Nachprüfung der CALKINS'schen Angaben über den Kern von *Amoeba proteus* färbte ich Schnittpräparate von Tieren, deren Kerne mit Boraxkarmin einen hellen Binnenraum zeigten, mit Eisenhämatoxylin. Ich konnte nur dann eine scheinbare Graufärbung des hellen Raumes konstatieren, wenn eine volle Halbkugel des Kerns auf den Schnitt getroffen war, so daß die intensiv gefärbten Chromatinbrocken des Wandbelags den darüber oder darunter liegenden hellen Raum grau erscheinen ließen. In allen anderen Fällen war dieser vollkommen farb- und strukturlos, gerade wie ein Saftraum, und nur von wenigen Maschen des Retikulums durchzogen. Ebenso negativ wie die Färbung mit Eisenhämatoxylin fiel der Versuch aus, mittels Gentianaviolett Nukleolen nachzuweisen. Man könnte demnach also 3 Kernformen bei *A. proteus* unterscheiden: 1. Das Chromatin ist auf den peripheren Kernraum beschränkt, das Centrum ist achromatisch; 2. Kerne mit peripherer Chromatinschicht und chromatischem Nucleolus; 3. die Chromatinkörnchen erfüllen den ganzen Kern ziemlich gleichmäßig.

Kulturverlauf: Die Tiere in den degenerierenden Amöbenkulturen waren fast durchwegs sehr groß und fielen durch ihre intensiv weiße Farbe im auffallenden Licht auf. Verursacht war

[1]) Kernteilung bei einigen Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXXVIII 1883.

[2]) Beiträge zur Kenntnis der *Amoeba blattae* u. *A. proteus*. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

diese weiße Färbung durch eine außergewöhnlich dichte Ansammlung der stets vorhandenen, im Alkohol verschwindenden Granula des Endoplasmas. Auf frühen Degenerationsstadien war das hyaline Ektoplasma von dem im Mikroskop undurchsichtig schwärzlich granulierten Endoplasma noch wohl unterscheidbar. Die Tiere bewegten sich ziemlich träg. Die für gewöhnlich so bedeutende Freßlust sank bis zum schließlichen völligen Stillstand jeder Nahrungsaufnahme. Die schwärzlichen Granulationen im Plasma nahmen immer mehr zu, das Ektoplasma verschwand mehr und mehr, die Amöben wurden immer unbeweglicher, bis sie sich schließlich nach einigen Wochen dieses Siechtums abkugelten, womit jede Unterscheidung des Ekto- und Endoplasmas aufhörte. Die Tiere, die sich bereits einige Zeit vor dem Abkugeln leicht von ihrer Unterlage losschütteln ließen, rollten jetzt vollkommen haltlos am Boden herum und zerfielen innerhalb weniger Tage. Vom Kern ließ sich die ganze Degenerationszeit über wegen der alles verdeckenden Granulationen am lebenden Tier nicht viel erkennen. Auf vorgerückten Stadien war es unmöglich, den Kern aufzufinden. Allerdings muß ich gestehen, daß ich gerade in der Zeit, während der die Degeneration vor sich ging, anderweitig sehr beschäftigt war und daher nicht genügende Untersuchungen an gepreßtem Material anstellen konnte, sondern mich hauptsächlich mit regelmäßigen Konservierungen begnügen mußte.

Ob die Depressionszustände stets zum Tode der Tiere führen, kann ich nicht entscheiden. Zwei meiner Kulturen sind völlig ausgestorben, in der dritten finden sich noch jetzt lebende Amöben, doch ließ diese Kultur wegen der Größe des Glases keine genaue Kontrolle über etwa auftretende Cysten oder andere regulatorische Vorgänge zu. Depressionstiere, die der Kultur entnommen und in Uhrschälchen weitergezüchtet wurden, gingen stets nach einigen Wochen ein.

Auffallend war der Trieb der Amöben, sich in größerer Zahl auf einen Punkt zusammenzudrängen. Besonders in einer, in einem Einmachglas gezüchteten und äußerst dicht besetzten Kultur war diese Erscheinung prachtvoll zu beobachten. Während die Amöben sich sonst gewöhnlich im Bodenschlamm aufhielten, krochen die degenerierenden Tiere in ungeheueren Massen am Glase empor und bildeten überall an der Wand Ansammlungen, die mit bloßem Auge auf den ersten Blick zu sehen waren. Ich konnte auch, ebenso wie STOLC (06) [1])

[1]) Plasmodiogonie, eine Vermehrungsart der niedersten Protozoen. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XXI 1906.

und Herr Dr. MARCUS, der im hiesigen zoologischen Institut arbeitet, zwei Tiere zusammenfließen sehen. In dem Material, das in dieser Zeit konserviert wurde, fanden sich zwei- bis dreikernige Individuen, deren Abstammung von einkernigen Formen man noch daran erkennen konnte, daß das Plasma der ursprünglichen Tiere noch deutlich an der verschieden starken Granulation zu unterscheiden war. Die Kerne waren nicht immer gleichartig gebaut. ŠTOLC sah zweikernige Amöben außerdem auch noch aus einkernigen durch Kernteilung ohne nachfolgende Körperteilung entstehen. Ich glaube auch das in Fig. 1 dargestellte Präparat in diesem Sinne deuten zu müssen. Wir sehen in einem Tiere fünf anormal kleine Kerne, einen davon in Abschnürung in zwei Partien. Augenscheinlich sind alle fünf Kerne auf diese amitotische Weise entstanden, während die normale Kernteilung von *Amoeba proteus* nach AWERINZEFF (04)[1]) eine typische Mitose sein soll. Sehr lang ausgezogene Kerne ohne Spur einer Mitose konnte ich des öfteren beobachten. Als Parallelen zu diesem auffälligen Befund seien die amitotischen Kernteilungen bei bösartigen Geschwülsten erwähnt, welch letztere HERTWIG (04) ebenfalls auf degenerative Wucherung zurückführt, ferner auf die Kernabspaltungen bei degenerierenden Infusorien.

Nach ŠTOLC können die zweikernigen Amoeben durch Körperteilung ohne Kernteilung wieder zum einkernigen Zustand zurückkehren. Auf einen anderen Weg, wie die mehrkernige Amöbe unter gleichzeitiger Chromatinreduktion wieder zum einkernigen Zustand gelangen kann, weisen die Fig. 2 und 3. In beiden Fällen wird anscheinend je ein Kern ausgestoßen. In Fig. 2 ist einer der beiden Kerne aus dem Plasma schon teilweise hinausgepreßt. Außerdem ist er infolge von Durchschnürungen der Membran in mehrere Partien zerklüftet. Der zurückbleibende Kern ist außerordentlich klein, wie ein durch amitotische Abschnürung entstandener. Der Kern, der bei der Amöbe in Fig. 3 abgestoßen wird, unterliegt bereits einer starken Verklumpung des Chromatins. Mit dem Kern zugleich wird eine Portion bräunlich verfärbten Plasmas aus dem Körper entfernt. Ich konnte auch in meinen Uhrschälchenkulturen öfters kleine leblose Protoplasmakügelchen erkennen, die ihrem Bau nach offenbar von *Amoeba proteus* abstammten, und deren Entstehen ich mir durch eine Abstoßung degenerierter Substanz erkläre. Eine solche Kernausstoßung in Verbindung mit bräunlich verfärbtem Protoplasma konnte auch HERTWIG bei *Actinosphaerium* konstatieren. Ferner be-

[1]) Über die Teilung bei *Amoeba proteus*. Zool. Anz. Bd. XXVII 1904.

schreibt Kasanzeff (01) [1]) bei *Paramaecium* Abspaltungen bräunlicher Massen aus übermäßig großen Kernen.

Stolc will für die Vermehrung der mehrkernigen Amöben den Namen „Plasmodiogonie“ einführen, aber trotz seiner Definition der Plasmodiogonie konnte ich mir nicht darüber klar werden, ob er darunter die Kernvermehrung versteht, die zu den mehrkernigen Individuen führt, oder die Plasmogamie zweier Tiere, oder die Körperteilung, durch die die mehrkernigen Tiere wieder zu einkernigen werden. Auf jeden Fall halte ich einen nenen Namen für eine alte Sache für sehr überflüssig.

Als Grund zum Auftreten mehrkerniger Amöben glaubt Stolc annehmen zu müssen, „die mehrkernigen Formen kommen dann zum Vorschein, wenn sich das Medium irgendwie verändert.“ Hiernach müßten die mehrkernigen Formen sehr leicht zu erzielen sein, wenn man nur immer die Kulturbedingungen verändert, was nicht zutrifft. Im übrigen kann ich versichern, daß meine Kulturen, in denen mehrkernige Tiere auftraten, unter stets gleichen Bedingungen gehalten wurden. Die Plasmogamie der Amöben ist wohl ebenso wie bei *Trichosphaerium* und *Actinosphaerium* ein rein regulatorischer Vorgang. Das Auftreten mehrkerniger Formen durch Kernteilung ohne nachfolgende Körperteilung dürfte ebenfalls auf eine Störung der normalen Kernplasmarelation zurückzuführen sein. Auch Stolc's mehrkernige Amöben traten im Dezember, also nach langer Kulturperiode auf, und die Mehrkernigkeit konnte „neben den Vorteilen“, die sie bietet, „auch zum Ausgangspunkt gewisser Nachteile werden“, d. h. die Tiere starben leicht ab.

Die Veränderungen des Protoplasmas: Bei der Färbung der Amöben mit Boraxkarmin nach Konservierung mit Pikrinessigsäure fiel meist eine sehr energische Färbbarkeit des Protoplasmas auf, während die des Kerns sehr hinter dem Normalen zurückstand. Häufig zeigte sich das Plasma fast ebenso stark gerötet wie der Kern. Verursacht war diese Erscheinung durch reichlichen Chromatinaustritt aus dem Kern.

Bei einer Kultur, die bei ziemlich niedriger Temperatur (im ungeheizten Zimmer bei etwa 8° C) langsam degenerierte, fand ich das Chromatin in den Wabenwänden des Plasmas in feinsten Körnchen verteilt. Diese Chromidien haben die bemerkenswerte Eigenheit, daß sie sich den Nahrungsvakuolen stets mit großer Vorliebe dicht anlagern. Es machte mir den Eindruck, als ob dieses fein verteilte Chromatin

[1]) Experimentelle Untersuchungen über *Paramaecium caudatum*. Inaug.-Dissert. Zürich 1901.

aus dem Tier ausgestoßen würde. Wenigstens fand ich in einer kontinnierlichen Übergangsreihe das Chromatin in wolkigen Ansammlungen ins Ektoplasma (Fig. 1) verlagert und schließlich wie einen Fremdkörper dem Ektoplasma haubenförmig anfsitzen. Beträchtliche Chromatinmassen verwandeln sich aber wohl auch schon im Endoplasma zu Pigment, und so erklärt sich der häufig gelbliche Farbenton im Plasma. Merkwürdigerweise besaßen die Tiere dieser langsam, innerhalb mehrerer Monate zu Ende gehenden Kultur so gut wie keine sog. Eiweißkugeln.

Von einer anderen degenerierenden Amöbenkultur brachte ich eine Portion in einen Brutofen von 25° C und erhielt nun einen ganz anderen Verlauf der Chromidienbildung. In dichten Schwaden durchziehen hier die Chromatinwolken vom Kern weg das ganze Plasma (Fig. 4). Die Tiere sehen, mit Boraxkarmin gefärbt, schon bei ganz schwachen Vergrößerungen rotgefleckt aus. Bereits wenige Tage, nachdem ich die Tiere der Wärme ausgesetzt hatte, waren sie undurchsichtig schwarz und zogen ihre Psendopodien ein. Präparate von diesen Tieren boten ein ganz merkwürdiges Bild. Das ganze Plasma war von kleinen, stark lichtbrechenden Kristallen so dicht durchsetzt, daß manchmal die Kernkonturen unter ihnen verschwammen (Fig. 5). Auf meinen Boraxkarminpräparaten erscheinen sie gelblich, im lebenden Tier sind sie farblos. Eine sehr gute Besprechung der Literatur über die Kristalle sowie ziemlich ausgedehnte Versuche zu ihrer chemischen Analyse, allerdings mit wenig Erfolg, finden sich in der Arbeit von Schubotz (l. c.). Daß die Kristalle meiner Amöben dieselben sind wie die von Schubotz beschriebenen, beweist mir außer ihrer Gestalt (Textfig. 1) ihre Doppelbrechung und ihre Löslichkeit in Ammoniak und Wasser. Seit Erscheinen der Schubotz'schen Arbeit wurden Kristalle bei Amöben noch von Nereshejmer (05) [1]) in *Amoeba dofleini* beobachtet. Scheint hier auch die Kristallform eine etwas andere zn sein (genau war sie wegen der Kleinheit des Okjektes nicht festzustellen), so deutet doch ihre Löslichkeit in Alkalien, Wasser und Säuren, sowie ihre Doppelbrechung mindestens auf eine sehr nahe Verwandtschaft mit denen von *Amoeba proteus*.



Fig 1.
Comp. Oc. 6.
Imm. 1/12.

Die zeitlich unmittelbare Aufeinanderfolge der starken Chromidienentfaltung und Kristallbildung ließ

[1]) Über vegetative Kernveränderungen bei *Amoeba dofleini*. Arch. f. Protistenk. Bd. VI 1905.

mich an einen engeren Znsammenhang zwischen beiden Erscheinungen denken. So sehr ich nach Durchmusterung meiner Präparate davon überzeugt bin, daß die Kristalle wirklich durch Umbildungsprozesse aus Bestandteilen der Chromidien, oder wenigstens durch deren Vermittlung, entstehen, so glaube ich doch, daß es fast unmöglich sein dürfte, hierfür einen strikten morphologischen Beweis zu erbringen, da man nicht die Entstehung der Kristalle direkt am lebenden Tier verfolgen kann. An den Präparaten kann man sich leicht eine fortlaufende Reihe für die Genese der Kristalle konstruieren, wie zuerst in den Chromidien runde Vaknolen entstehen, deren Inhalt sich mit Karmin schwach rosa färbt; die Konturen der Vakuolen sind von sehr stark färbbaren Chromatinpartikelchen nmsäumt. Später scheint sich der Inhalt der Vakuolen zu konzentrieren, er wird immer stärker lichtbrechend, unregelmäßig in seiner Gestalt und eckig, und schließlich sieht man Gebilde, von denen man zweifeln kann, hat man schon einen Kristall vor sich mit etwas unscharfen Winkeln oder noch nicht (Fig. 6). Seine Färbbarkeit wird während dieses Umwandlungsprozesses immer schwächer. Die fertigen Kristalle kommen dann außerhalb der Chromatinwolken zu liegen nnd verstrenen sich im ganzen Plasma. Ihre Länge erreicht öfters 3 μ.

Nach Nereshеimer entstehen bei *Amoeba dofleini* die Kristalle ebenfalls mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit aus ausgestoßener Chromidialsubstanz. Bemerkenswert ist, daß bei der in kühler Temperatur gehaltenen Knltur gar keine Kristalle anftraten, wohl infolge der stark verlangsamten Chromatinabscheidung aus dem Kern. In Zimmertemperatnr war die Kristallbildung ebenfalls sehr beschränkt. Sie ist wohl bloß eine Folge der in der Wärme gesteigerten Lebensprozesse. Zeigt schon diese Abhängigkeit des Auftretens der Kristalle von den Temperatnrbedingungen, daß sie wohl kaum einen für die Amöbe wichtigen Bestandteil ausmachen, so dürfte dies noch viel mehr darans folgen, daß man große Kristallmengen öfters zu runden Paketen im Plasma dicht zusammengedrängt sieht, die anscheinend wie Exkretkörper aus dem Tiere ausgestoßen werden.

Eigentümlicherweise traten in der Wärme ebenso wie in der Kälte so gut wie keine sog. „Eiweißkugeln“ auf, während sie bei den im Zimmer gehaltenen Tieren oft in unglaublichen Mengen vorhanden waren. (Als „Eiweißkngeln“ werden bei *Amoeba proteus* homogene Körper im Plasma bezeichnet, die mit Hämatoxylin eine äußerst intensive Färbung annehmen. Nähere Angaben über die Eiweißkngeln finden sich bei Schubotz (05)). Das Vikariieren der Eiweißkugeln in Zimmertemperatnr mit den Kristallen in der Wärme

ließ mich daran denken, beiderlei Gebilde möchten dieselbe Herkunft haben, doch konnte ich keinerlei Anhaltspunkte hierfür gewinnen.

Ähnliche Veränderungen wie die eben beschriebenen dürfte wohl schon Štolc gesehen haben, ohne sich freilich über ihre Bedeutung klar zu werden. Er widmet zwar dem „komplizierten Protoplasma“ einen eigenen Abschnitt mit etwas merkwürdigen Deduktionen, wir erfahren darin aber nicht, worin sich die Komplikation äußert. Gruber's (84)[1]) Unterscheidung von sechs Amöbenarten anstatt der einen *Amoeba proteus* basiert teilweise auch auf Merkmalen, wie sie durch die Degeneration hervorgerufen werden. So ist *Amoeba quinta* zum Unterschied von *Amoeba proteus* mehrkernig, die Kerne haben eine periphere Chromatinschicht und einen centralen Nukleolus, während bei *Amoeba proteus* die Chromatinkörnchen im ganzen Kern gleichmäßig verteilt sind; ferner unterscheidet sich *Amoeba quinta* durch den Reichtum an Kristallen, den Mangel eines hyalinen Ektoplasmas, die Bildung von nur wenigen Pseudopodien und den Gehalt von „sehr wenig geformter Nahrung“, lauter Anzeichen von Degeneration. Weitere Untersuchungen, besonders an vielkernigen Amöben, von denen mir keine zur Verfügung standen, dürften wohl die sechs Arten Gruber's etwas zusammenschrumpfen lassen.

Die Veränderungen des Kerns: Die Umwälzungen im Kern der *Amoeba proteus* bei der Degeneration sind, wie schon der massenhafte Austritt von Chromatin anzeigt, von ausschlaggebender Bedeutung für den ganzen Degenerationsprozeß. Sie führen zum allmählichen völligen Untergang des Kerns. Als Kerndurchmesser fand ich bei degenerierenden Tieren mit möglichst rundem, scheibenförmigem Kern Größen zwischen 44,5 und 53 μ, an älteren Präparaten des hiesigen Instituts dagegen meist 35—38 μ, während Gruber (84) als normalen Durchmesser etwa 40 μ angibt. Die Kerne sind somit größer als normal, zudem besitzen sie einen außergewöhnlich hohen Chromatingehalt, sie sind hyperchromatisch. Solange die Degeneration nicht zu weit fortgeschritten ist, sucht sich der Kern seines übermäßigen Chromatinreichtums durch den besprochenen Austritt eines Teiles desselben ins Plasma zu entledigen. Zuletzt jedoch geht der ganze Kern zugrunde, und zwar konnte ich zwei Modifikationen verfolgen, nach denen die Kerndegeneration zustande kommen kann. Kleine Abweichungen von beiden Degenerationsarten wurden öfters beobachtet, doch glaube ich diese wegen

[1]) Studien über Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLI 1884.

ihrer Nebeusächlichkeit übergehen zu dürfen. Die Ursacben der Verschiedeuheiten konnte ich leider nicbt ergründen. Vielleicht spielen dabei Verschiedeuheiten in der Dicke und Konsistenz der Kernmembran eine Rolle, wenigstens glaubte icb öfters hier Unterschiede machen zu können, obne jedoch zu einem sicheren Resultat zu gelangen. Die äußere Form des Kerns ist bei beiden Degenerationsarten sehr variabel und ohne weitere Bedeutung, sie ist wohl nur der Ausdrnck äußerst stürmiscber Vorgänge im Kern.

Beide Variationen der Kerndegeneration beginneu mit einem Zerstieben der Chromatinbrocken, die für gewöhnlich eine ziemlich bedeutende Größe besitzen (Fig. 4). Es macht den Eindrnck, als würden sie wie durch einen Schlag in kleine Teilchen zersprengt.

Bei der einen Variation der Kerndegeneration klumpt sich nun das Chromatin innerhalb des Kerns unregelmäßig zusammen. Diese Chromatinklumpen werden unter Verwandlung in bräuuliches Pigment aus dem Kern ausgestoßen (Fig. 7). Dabei wird das seines Chromatins entledigte Kernretikulum schön sichtbar. Schließlich ist der Kern mit Ausnahme eines äußerst zarten Chromatinbelages an der Kernmembran völlig achromatisch (Fig. 8), so daß der Kern heller ist als das umgebende Plasma, das dnrch die reichliche Chromatiuaufnahme bräunlich verfärbt ist. Als eine kleine Abweichung von der eben beschriebenen Chromatinausstoßung, die aber zu demselben Endresnltat führt, fasse ich deu Kern der Fig. 9 auf, der scharf in eine chromatische und eine achromatische Hälfte geschieden ist. Die Scheidewand wird von eiuer durch den ganzen Kern durcbgehenden Chromatinlamelle gebildet. Das Chromatin ist in unregelmäßigen Fäden und Klnmpen angeordnet. Es scbeint hier die Säuberung des Kerns von Chromatin durch eine einzige große Abstoßung vor sich zu gehen. Die ferneren Schicksale derartiger fast chromatinfreier Kerne konnte ich aus meinen Präparaten nicht erschließen, da die Degenerationsart ziemlich selten war. Ich glaube aber nicbt, daß sie imstande sind, sich wieder zu erholen, sonst wäre wohl die Kultur nicbt ausgestorben.

Die zweite sehr häufige Art der Kerndegeneration beginnt mit einer gleichmäßigen Verbreitung des feinkörnig gewordenen Chromatins im ganzen Retiknlum. Dadurcb verschwindet der chromatische Nukleolus, und der ganze Kern ist von einem sehr engmaschigen, stark chromatischen Retiknlum gleichmäßig durchzogen. Die Chromatinkörnchen verkleben und verschwimmen ineinander. Während dieses Prozesses verquillt auch die Kernmembran, wenigstens wird sie stärker lichtbrechend und dicker, um bald zu verschwinden.

Die Auflösung der Kernmembran ist ein Charakteristikum dieser Art der Kerndegeneration, im Gegensatz zur anderen, wo die Membran den am längsten ansdauernden Kernteil bildet. An Stelle der Membran umrandet den Kern ein immer breiter werdender brauner Saum (Fig. 10), der aus degenerierenden Bestandteilen des Chromatins besteht. Immer weiter dehnt sich der braune Ring aus, immer mehr homogenisiert sich das Chromatin, und schließlich sehen wir nur noch eine braune, anscheinend wie zäher Teig auseinander laufende Masse an Stelle des Kerns vor uns (Fig. 11), die sich allmählich im ganzen Tier verteilt. Ebenso wie die früher ausgestoßenen Chromidien besitzt auch dieses Chromatin eine auffallende Neigung, etwa im Tier vorhandene Nahrungskörper zu umfließen. Wie dadurch das Bild des Kerndegenerationsprozesses modifiziert wird, zeigen die Fig. 12 und 13. In Fig. 13 ist nur noch ein sehr geringer Rest durch Karmin rotgefärbten Chromatins vorhanden, das dem Futterkörpers unmittelbar anliegt.

Die aus dem degenerierten Kern hervorgegangene braune Masse verbreitet sich im ganzen Plasma und gibt dadurch diesem eine bräunliche Färbung. Allmählich entledigt sich jedoch das Plasma wieder der chromatischen Teile und hellt sich zusehends auf. So resultieren schließlich Amöben mit zart rosa gefärbtem Plasma, denen jede Spur eines Kerns fehlt. Am lebenden Material im Uhrschälchen konnte ich kernhaltige und kernlose Tiere wegen der Undurchsichtigkeit sämtlicher Amöben nicht unterscheiden. Trotzdem möchte ich mit Sicherheit behaupten, daß die kernlosen Tiere in der Kultur großenteils noch lebten und sich bewegten. Ich sah nämlich vor jeder Abtötung die betreffenden Tiere durch und konnte feststellen, daß ein Teil der Tiere bereits abgekugelt war, während die übrigen langgestreckten alle noch träg Pseudopodien bildeten. In meinen Präparaten habe ich nun völlig kernlose Tiere, deren Körper noch langgestrekt und mit Pseudopodien versehen ist (Textfig. 2). Ein anderer Teil der kernlosen Tiere jedoch ist vollkommen abgekugelt, ein Zeichen, daß sie im Absterben begriffen waren. Die kernlosen Amöben sind in den degenerierenden Kulturen absolut keine Seltenheit. Unter den etwa 200 fixierten Tieren aus der Kältekultur sind 17 solcher „Moneren". Leider habe ich keinerlei Anhaltspunkte, wie lange die Tiere im kernlosen Zustand noch umher zu kriechen vermögen. Daß kernlose Amöben noch tagelang Bewegungen zeigen, geht aus den Hofer'schen (90)[1]) Versuchen mit Sicherheit hervor.

[1]) Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kerns auf das Protoplasma. Jen. Zeitschr. Bd. XXIV 1890.

Die Fähigkeit, Futterkörper aufzunehmen, glaube ich den kernlosen Amöben absprechen zu müssen. Schon unter den noch kernhaltigen degenerierenden Tieren findet man nur selten gut gefütterte. Meist sind nur wenige, selten gar keine gefressenen Körper im Plasma eingeschlossen. Bei den kernlosen Formen sind zwar auch

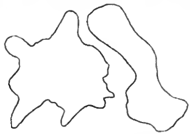


Fig. 2. Comp. Oc. 2. Ob. 5.

öfters noch einige Fremdkörper anzutreffen, doch sind diese stets schon so stark anverdaut, daß sie schon vor dem Zugrundegehen des Kerns gefressen sein mögen. Die abgekugelten kernlosen Tiere sind stets völlig futterfrei. Auch die kernlosen Amöben Hofer's waren unfähig, neue Nahrung aufzunehmen, und sogar die Assimilation bereits vor der Entkernung aufgenommener Nahrungskörper war angeblich nur so lange möglich, als die im Plasma bereits vorhandenen Fermente vorhielten. Völlig dürfen jedoch die durch Degeneration entstandenen kernlosen Amöben den mittels Operation entkernten nicht gleichgestellt werden, da erstere immer noch eine bedeutende Menge aus dem Kern stammender Chromatinteile in sich schließen.

Zum Schluß möchte ich noch kurz auf eine Parallele zwischen den degenerierenden Amöben und einer Erscheinung bei den Zellen maligner Geschwülste hinweisen, welch letztere Hertwig (04) ja ebenfalls auf degenerative Wucherung zurückführt. Aus Hertwig's Darstellung der Veränderungen solcher Geschwulstzellen ersehe ich, daß dort hyper- und hypochromatische Kerne unterschieden werden. War es Hertwig nicht möglich, bei Actinosphaerium eben solche Unterscheidungen zu machen, so zeigen nach meinen Ergebnissen die degenerierenden Amöbenkerne beide Erscheinungen desto schöner. Einerseits sehen wir ungewöhnlich große Kerne mit Chromatin dicht erfüllt, andererseits fast achromatische Kerne.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Fünfkernige *Amoeba proteus*.

Fig. 2 u. 3. Ausstoßung eines Kerns.

Fig. 4. Frisch gebildete Chromidien.

Fig 5. Kristallerfülltes Tier, Nelkenölpräparat.

Fig. 6. Entstehung der Kristalle.

Fig. 7. Ausstoßung des Chromatins aus dem Kern unter Verwandlung in Pigment.

Fig. 8. Tier mit fast chromatinfreiem Kern.

Fig. 9. Kern in eine chromatische und eine achromatische Hälfte geteilt.

Fig. 10—13. Verwandlung des ganzen Kerninhalts in Pigment nach Auflösung der Membran. *f* = Futterkörper.

Fig. 1, 2, 3, 8, 12, 13 gezeichnet mit Abbé'schem Zeichenapparat bei Leitz Oc. 2, Ob. 5. Fig. 4 u. 6 Comp. Oc. 4, Immers. $^1/_{12}$. Fig. 5 Comp. Oc. 2, Ob. 7. Fig. 7, 9, 10 11 Comp. Oc. 2, Immers. $^1/_{12}$.

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.
Direktor: Dr. Nocht. Abteilungschef: Dr. Schaudinn †.)

Untersuchungen über *Babesia canis* (Piana und Galli-Valerio).

Von
K. Kinoshita (Formosa, Japan).

(Hierzu Tafel XII—XIII.)

Einleitung.

Seit der Entdeckung von Piana und Galli-Valerio (31) wurde *Babesia canis* von mehreren Autoren studiert und die biologischen sowie pathogenen Eigentümlichkeiten dieses Parasiten festgestellt. In erster Linie sind die Namen von Nocard (25), Almy (25), Motas (26), Nuttall (28) und Smith (35) und vor allem die Entdecker Piana und Galli-Valerio (31) selbst als Beobachter der Hundebabesia hervorzuheben. Trotz der Arbeit dieser Forscher blieben bisher noch manche Punkte, besonders in der Entwicklungsgeschichte dieser Schmarotzer, ungeklärt, so z. B. die Frage der Vermehrung durch Knospenbildung, welche zuerst von Nocard und Motas (26) beobachtet und zwar nur als Amöboidform bezeichnet wurde, wobei sich diese Autoren aber bereits die Frage vorlegten, ob sich der Parasit nicht auch durch Abschnürung derartiger pseudopodienartiger Ausläufer, d. h. also durch Knospenbildung, vermehren könnte. Diese Vorgänge wurden von Galli-Valerio (11) für Sporulation gehalten, während Nuttall und Smith (29) sie nur als eine unregelmäßige Form der schnell verlaufenden direkten Teilung deuten.

Ferner wurden die im Serum frei zu findenden Individnen bisher von mehreren Autoren als Jugendformen gedeutet, während andere in ihnen die Gameten erblickten. So schreibt Galli-Valerio (11), daß unter den freien Parasiten zuweilen sich Formen finden, an welchen das eine Ende lang ausgezogen ist, und daß dieselben wahrscheinlich Gametenformen seien. Nuttall und Smith (29) sprechen auch von Gameten. Sie erwähnen Formen, welche von Bowhil und Doux (4) unter den freien Parasiten beschrieben wurden, nämlich mit geißelähnlichen Ansläufern versehene Individuen, welche letztere Autoren für Flagellatenstadien hielten, während Nuttall und Smith geneigt sind, dieselben als Mikrogametocyten zu deuten. Ferner beschrieben sie wurstförmige Parasiten von 10,3—10,7 μ Länge und 1,4—1,7 μ Breite, die nach ihrer Ansicht möglicherweise Gameten sein könnten. Außer ihnen hat niemand bisher derartige Stadien gefunden.

Die Frage der Unterscheidung von Jugendformen und Gameten ist hiernach noch nicht zur Entscheidung gebracht.

Material.

Um die verschiedenen Formen der Parasiten in größerer Menge nebeneinander zu Gesicht zu bekommen, wurden zum Stndium als Material hauptsächlich junge Hnnde benutzt, die an akuter Piroplasmosis erkrankt waren. Um diese Erkrankung zu erzielen, wurde den Versuchstieren 1 oder 2 ccm parasitenreichen Blutes inokuliert. Nach 3—5 Tagen stellte sich dann bei der akuten Krankheit hohes Fieber ein, das einige Tage dauerte, dann nahm die Temperatur bis zum Normalen ab, nm erst kurz vor dem Tode wieder zu steigen, wie dies von Smith (35) auch beobachtet wurde. Außerdem zeigten diese aknt erkrankten Hunde Appetitlosigkeit, Abmagerung (hiervon gibt es aber Ausnahmen), Anämie, in einigen Fällen Ikterus und Hämoglobinurie nsw. Mit diesen akut verlaufenden Fällen wurden bezüglich der Parasitenbefunde auch einige leicht oder chronisch verlaufende Fälle und solche, die zur Immunisierung führten, zum Vergleich herangezogen. Die Zahl der untersuchten Tiere beträgt bisher 10. Die Blutpräparate und Organausstriche wurden nach den in der Malariaforschung üblichen Methoden hergestellt. Zur Fixierung der Trockenausstriche diente Alcoh. abs. (15 Minuten) oder Alkohol und Äther zu gleichen Teilen, die Färbung erfolgte nach der neuen Methode von Giemsa unter Alkalizusatz. Gewöhnlich genügte eine Stunde zur Darstellung der Kerne, selten war es

notwendig, die Präparate über Nacht in der Farbe zu lassen oder letztere sogar zu wechseln.

Die Gestalt der Parasiten.

Im frischen Blutpräparat lassen sich bei den lebenden Babesien im Ruhezustande ohne längere Beobachtung leicht zwei Grundformen unterscheiden, die eine ist birnförmig, die andere rundlich scheibenförmig. Die birnförmigen Parasiten finden sich einzeln und zu zweien in der bekannten Hantelform verbunden, oder auch in größerer Zahl sowohl in oder auf den roten Blutkörperchen liegend als auch frei im Serum zerstreut. Manche dieser Formen scheinen sicher nur auf den Blutkörperchen aufgelagert oder nur wenig eingesunken zu sein, weil man sie bei bestimmter Lagerung des Erythrocyten sich deutlich über die Oberfläche erheben sieht, worauf Kossel (17) auch aufmerksam gemacht hat. Die abgerundet scheibenförmigen Parasiten dagegen scheinen mir meist im Blutkörper zu liegen, obwohl es auch hierbei Fälle gibt, wo die Parasiten über den Rand des Blutkörpers hervorzuragen scheinen, ähnlich wie dies Argutinsky (1) als Beweis für die Auflagerung der Malariaparasiten beschreibt und abbildet. Von Bewegungen konnte ich zwei Arten beobachten, Orts- und Amöboidbewegung, welche auch bereits von anderen Autoren unterschieden wurden. Die amöboide Bewegung ist am häufigsten bei den runden Parasiten zu erkennen. Bei den einfachen und Doppelbirnen, die in oder auf den Blutkörpern sich befinden, bemerkt man in den frisch angefertigten Präparaten keine Bewegungen. In der feuchten Kammer fangen aber nach 10—15 Minuten einzelne Individuen an, innerhalb des Blutkörperchens rotierende und gleitende, oft recht lebhafte Bewegungen auszuführen, ohne dabei ihre birnförmige Gestalt merklich zu verändern. Zuweilen buchten sie hierbei die Oberfläche des sie beherbergenden Blutkörperchens deutlich hervor. Ähnliche Lokomotionsbewegungen kann man oft noch deutlicher bei den freien, im Serum schwimmenden Birnen beobachten; bei der Lokomotion geht das zugespitzte Ende immer voran. Dies Vorwärtsgleiten erfolgt unter Rotation, Zittern und Wackeln des ganzen Körpers und erfolgt immer nur auf kurze Strecken. Immer zeigen sich aber nur einzelne Formen dieser Bewegung, die auch im überlebenden Präparat meist nur von kurzer Dauer ist.

Bei den im Blutkörperchen eingeschlossenen Parasiten erscheint das Protoplasma im allgemeinen homogen und hebt sich von dem

gelben Untergrnnde der Blutzellen nnr blaß ab. Wenn man jedoch das Präparat länger in der Lnft beläßt, so wird das Protoplasma granuliert. Der Kern ist meist schwer zn erkennen; nur wenn das Protoplasma anfängt granuliert zu werden, tritt ein rundliches Kügelchen deutlicher ans ihm hervor, das sich je nach der Einstellung des Mikroskops als dnnkler Kreis mit rundem, hellem Fleck oder heller Kreis mit dunklem Fleck in der Mitte zeigt, wie es Smith und Kilborne (34) bei der *Babesia bovis* bereits beschrieben haben. Die freien Parasiten können ähnlich aussehen wie die eben beschriebenen in oder auf dem Blutkörperchen liegenden, doch findet man hier auch andere Formen, die vom Beginn der Beobachtung an ein dunkel granuliertes Protoplasma und einen deutlichen Kernfleck erkennen lassen. Wir werden später sehen, daß es sich hierbei wahrscheinlich um Formen von ganz anderer entwicklungsgeschichtlicher Bedeutung handelt. Ich halte sie für die weiblichen Gameten. Die Größe der Parasiten schwankt zwischen 2,0 und 7,0 μ.

Im fixierten nnd gefärbten Präparat zeigen die Parasiten, welche im lebenden Zustande meist nur rundlich oder birnförmig erschienen, mannigfaltigere Gestalten, wie z. B. außer rundlich und birnförmig oval wallnnßartig, dreieckig, rautenförmig, bandartig und ganz unregelmäßig amöboid. Das Protoplasma färbt sich nach Giemsa in allerlei Abstufnngen von hell bis dnnkelblau und ist meist nicht homogen, sondern vakuolär oder alveolar strukturiert. Die Vakuolen sind bald größer, bald sehr klein und haben zuweilen einen stärker lichtbrechenden Inhalt, so daß der nngefärbte Fleck im Protoplasma fast perlartig glänzt. Daß das Protoplasma meistens an der Peripherie der Parasiten dunkler nnd dichter gefärbt wird, was von allen Autoren bisher beschrieben wnrde, beruht darauf, daß in diesen Teilen die Vaknolisierung fehlt oder so fein wird, daß sie nicht erkennbar ist. Eine Differenzierung in Ekto- und Entoplasma ist mir nicht erkennbar gewesen, eine an die Hüllschicht mancher Trypanosomen erinnernde, nach Giemsa färbbare periphere Zone habe ich nur in einem Präparat beobachtet, das von Blut angefertigt war, welches längere Zeit im Eisschrank aufbewahrt worden war. (Taf. I Fig. 57). Es ist denkbar, daß es sich bei diesen überlebenden Formen nm eine ähnliche Schutzhülle handelt, wie sie von Prowazek (32) bei den Ruhestadien von *Herpetomonas* beschrieben wurde. Der Kern erscheint auch in verschiedener Gestalt, so als Stäbchen, Strich, Ring oder Halbring, Punkt, oder hat eine dreieckige, runde oder unregelmäßige Form. Er liegt im allgemeinen in der Nähe der Vakuole, bei der Ring- oder Halbringform des Kernes umgibt er sie in dieser

Gestalt, doch kann er auch in der Vakuole eingeschlossen erscheinen; die stäbchen-, strich-, punktförmigen und unregelmäßigen Kerne befinden sich an unbestimmten Stellen des Protoplasmas. Der Kern färbt sich in allen Nuancen von hell bis schwarzrot; bei der Teilung kann man im Kern zwei Substanzen unterscheiden, das Karyosoma in einem tiefroten Farbentone und die übrige hellrote Kernsubstanz. Die Größe und Gestalt des Kernes ist ein wichtiges Kriterium bei der Deutung der Entwicklungsstadien der Parasiten. Hierüber wird bei der Beschreibung der einzelnen Individuen Näheres mitgeteilt werden. Der Blepharoblast besitzt entweder runde oder stäbchenförmige Gestalt und ist im allgemeinen dem Kern entgegengesetzt gelagert, derart, daß z. B., wenn der erstere sich im Spitzteile des Protoplasmas eines birnenförmigen Parasiten befindet, der letztere im Randteile liegt. Er färbt sich in Abstufungen von dunkel blaurot bis violett, stets in einem vom Kern etwas verschiedenen Farbenton; wenn er aber in oder auf dem Kerne gelegen ist, was nicht selten der Fall ist, so ist es oft ziemlich schwer, diese Farbendifferenz deutlich zu unterscheiden; bei den ringförmige Kerne besitzenden Parasiten sitzt er häufig auf dem Randteile des Kernringes, mit dem Kerne eine echte Siegelringform bildend; in manchen Fällen scheint er ebenso wie der Kern selbst auch in der Vakuole des Plasmas eingeschlossen zu sein. Mit dem Fortschritte der Entwicklung der Parasiten verändert er seine Größe und Gestalt wie der Kern; doch sind die Umbildungsformen nicht so mannigfaltig. Von den meisten Autoren wurde bisher der Blepharoplast nicht erkannt, sondern nur ein einziger Kern beschrieben, der im allgemeinen eine rundliche und ovale Gestalt besitzen sollte, obwohl einige Autoren die stäbchenförmigen oder unregelmäßigen Kerne auch bereits beobachtet haben; Theiler (27) gibt z. B. an, daß die Kernform meistenteils mit der Gestalt der Parasiten übereinstimme. Richtiger scheint mir zu sein, daß der Kern bei seinen vegetativen Funktionen nie eine regelmäßige Gestalt besitzt, wie wir es ähnlich auch bei den halberwachsenen Malariaparasiten beobachten können. Ich glaube, daß die Autoren in vielen Fällen den Kerndimorphismus nicht erkannt haben, sondern nur den Blepharoplasten als einzigen Kern gesehen, wenn, wie oft der Fall ist, dieser sehr groß ist, während die Kernsubstanz dagegen gering und fein verteilt erscheint, und dazu noch wegen der starken Blaufärbung des Protoplasmas sich nicht gut differenzieren läßt.

Aus den verschieden gestalteten, häufig in allen Formen nebeneinander vorkommenden Parasiten galt es nun zunächst diejenigen,

welche in den Kreis der asexualen Vermehrung und Entwicklung gehören, herauszufinden. Hierbei kam ich zu Resultaten, die von den Kombinationen, welche NOCARD und MOTAS (26) sowie NUTTALL und SMITH (29) gegeben haben, abweichen. Meine Beobachtungen führen mich dazu, zwei Kreise von asexualer Entwicklung anfzustellen, nämlich Schizogonie von indifferenten Formen nnd Gametogonie, d. h. Vermehrung geschlechtlich differenzierter Formen. Die erstere ist eine multiple Vermehrung, die zweite erfolgt als Längsteilnng.

I. Die Schizogonie.

a) Die freien Jugendformen.

Im allgemeinen scheinen mir die im Sernm frei zu findenden birnförmig gestalteten Parasiten von den meisten Antoren für die jüngsten Individuen gehalten worden zu sein; sie werden oft mit dem Worte „Schwimmsporen“ bezeichnet. Einzelne Forscher jedoch, z. B. KOSSEL (17), DOFLEIN (8) bei *Piroplasma bigeminum* und GALLI-VALERIO (11), NUTTALL nnd SMITH (29) bei *Piroplasma canis*, glaubten bereits die freien Birnformen nicht als Anfangsstadien der Entwicklung, sondern als Endstadien und zwar als die Gameten ansprechen zu müssen. Dieser Ansicht kann ich mich nur anschließen; wir wollen daher aus der mannigfaltigen Formenreihe der im Blute befindlichen Parasiten zunächst diese freien Birnformen beiseite lassen. Als kleinste Parasiten finden sich dann rundliche Körperchen, die znnächst beschrieben werden sollen, weil ich sie für die jüngsten Merozoiten halte. Im gefärbten Präparat stellt diese Parasitenform sich als ein rundliches, dreieckiges oder polygonales Körperchen von 1,3—2,0 μ Durchmesser dar. Bei GIEMSA-Färbung nimmt das Protoplasma ziemlich stark und oft gleichmäßig blaue Färbung an, nur in seltenen Fällen finden sich schon kleine Vaknolen im Plasma, meist erscheint es homogen. Der Kern ist gewöhnlich rundlich, zuweilen etwas oval und liegt oft ganz an der Peripherie des Protoplasmas, seine Größe beträgt 0,7—1,0 m. Der Blepharoplast ist rundlich oder zuweilen stäbchenförmig, meist im Kern eingeschlossen (resp. ihm aufgelagert) oder ihm dicht anliegend. Frei findet man diese von mir als jüngste Merozoiten gedeuteten Formen meist nnr vereinzelt, ähnlich wie bei der Malaria, und nur bei ganz schweren Infektionen werden sie zahlreicher angetroffen (Taf. I Fig. 1, Taf. II Fig. 1). Die Art und Weise, wie diese freien Formen in die Blut-

körperchen eindringen, scheint mir ähnlich wie bei den Merozoiten der Malariaparasiten nach Untersuchungen von Schaudinn (33) zu sein. Bilder, wie Fig. 2 Taf. I sie zeigt, bei denen der Merozoit an der Peripherie des Blutkörperchens angeheftet erscheint, habe ich öfter beobachtet. In diesem Stadium wird der Kern meist verlängert oder an einer Stelle verengt; der Blepharoplast trennt sich oft von dem Kern und erhebt sich über die Peripherie des Protoplasmas als kleines Kügelchen. Eine dieser ähnlichen Form ist auch von Nuttal und Smith (29) beschrieben worden.

b) Die Ringformen.

Daß die jungen in das Blutkörperchen eindringenden Parasiten die Gestalt eines Ringes annehmen, indem sie eine Ernährungsvaknole ausbilden, wobei das Protoplasma an die Peripherie verlagert wird, wurde schon von Smith und Kilborne (34) in ihrer ersten Arbeit über das *Piroplasma bigeminum* beschrieben, auch Kossel (17) hat dieser Deutung zugestimmt. Auch Koch (13) erwähnt, daß diese Ringe, ebenso wie die jungen Malariaschizonten, in der Mitte den Farbenton des Erythrocyten durchschimmern lassen. In der Tat haben manche dieser jungen Parasiten die größte Ähnlichkeit mit Tropikaringen. Das Protoplasma erscheint auf der Blutzelle als tiefblauer, färbbarer, feiner Ring von etwa 2.0—2,5 μ Durchmesser ohne irgend eine Verdickung; der Kern ist langgestreckt und nimmt an der Gestalt des Ringes teil; der Blepharoplast ist rundlich und etwas angeschwollen, so daß ein Bild des Siegelringes entsteht (Taf. I Fig. 3). Ich glaube, daß dieser kleine Ring nur für die jungen Schizonten charakteristisch ist und nicht mit der später zu besprechenden Gametogonie in Verbindung gebracht werden kann; Birnformen entwickeln sich meiner Ansicht nach aus ihm nicht. Bei weiterem Wachstum bis zu etwa 3 μ Durchmesser behalten diese Formen die Ringgestalt; die Dicke des Ringes wird dann ungleichmäßiger; oft tritt im Verlauf des Ringes, meist gegenüber dem Kern, eine kleine Vakuole auf. Kern und Blepharoplast bleiben meist noch verbunden (Taf. I Fig. 4, Taf. II Fig. 2).

c) Die scheibenförmigen Wachstumsstadien.

Mit dem Fortschritte des Wachstums der Parasiten verändert sich die Ringform allmählich in eine rundliche Scheibe von 3,5—4,0 μ Durchmesser; das Protoplasma färbt sich noch in der Peripherie stärker; doch ist in der Mitte nicht mehr der Farbenton der Blutzelle sichtbar, sondern die Vakuole zeigt einen perlartigen Glanz;

der Kern und Blepharoplast sitzen am Rande dieser Vaknole, meist schon voneinander getrennt, wobei der erstere dreieckige oder stäbchenförmige Gestalt zeigt, während der zweite meist rundlich ist (Taf. I Fig. 5, Taf. II Fig. 3). Ähnliche Formen wurden von KOSSEL (17) und NUTTALL und SMITH (29) abgebildet; nur die Differenzierung von Kern und Blepharoplast wurde von ihnen nicht erkannt; wo sie einen Kerndimorphismus vor sich hatten, deuteten sie dies als frühzeitige Kernteilung. Letztere findet aber erst viel später statt.

d) Die Amöboidformen.

Diese Formen entwickeln sich direkt aus den Scheiben, indem diese am Rande Pseudopodien aussenden. Sie sind von allen Autoren beschrieben worden. Die Pseudopodien sind entweder breit und kurz oder schmal und lang, meist etwas blasser als das übrige Protoplasma gefärbt und zuweilen hier und da mit einigen Verdickungen versehen (Taf. I Fig. 7 u. 9, Taf. II Fig. 6). Der oft langgestreckte Kern oder auch der Blepharoplast werden nicht selten in die Pseudopodien hineingezogen, so daß letztere dann im Giemsapräparat als rot oder violett gefärbte Fortsätze erscheinen (Taf. I Fig. 6 u. 8, Taf. II Fig. 4 u. 5). LIGNIÈRES (22) hat bei *Piroplasma bigeminum* in seiner Fig. 8k wohl ein ähnliches Stadium abgebildet und hielt es für ein Vorstadium der Vermehrung. Obwohl diese Form mit der Sporulationsform, welche ich später beschreiben werde, entfernte Ähnlichkeit besitzt, ist sie doch von der Schizogonie leicht zu unterscheiden, weil bei dieser Amöboidform der Blepharoplast ungeteilt bleibt, während er sich bei der Sporulationsform in ebensoviele Teile wie der Kern teilt. Auch bei der Amöboidform der Tertiana-Schizonten wird die Kernsubstanz oft verzerrt und in die Pseudopodien hineingezogen. Auf ähnliche Kernbilder, d. h. Amöboidwerden des Kerns und Eintritt seiner Fortsätze in die Pseudopodien, möchte ich auch die von LIGNIÈRES geschilderte Keimbildung, an der nur der Kern und nicht das Protoplasma teilnehmen soll, zurückführen. Merozoiten dürften die Keime dieses Autors kaum sein, da diese außer dem Kern stets ein wohlausgebildetes Protoplasma aufweisen, gleichgültig, ob sie sich innerhalb oder außerhalb des Blutkörperchens befinden. Bei diesen Amöboidformen fehlt oft schon die größere Vaknole, der Kern ist stets unregelmäßig gestaltet, während der Blepharoplast kugelig ist. Unter den zahlreichen Formen, welche das Amöboidstadium während seines Wachstums annimmt, gibt es auch typische Bandformen (Taf. I Fig. 10, Taf. II Fig. 7),

ähnlich wie bei den Quartanparasiten der Malaria, doch glaube ich, daß viele dieser Formen als Kunstprodukte bei der Konservierung aufzufassen sind. Die Malariabandform, die von vielen Autoren für ein charakteristisches Stadium der Quartanparasiten gehalten wird, dürfte nach meinen Beobachtungen auch nur eine künstlich bei der Konservierung veränderte Form darstellen, weil, wenn man das frische Blut bei Quartana untersucht, man außer den in lebhafter amöboider Bewegung befindlichen runden Parasiten niemals Bandformen finden kann. Die Ausbildung solcher Formen in den Präparaten halte ich für das Resultat des auf das Blut bei Ausstrichen ausgeübten Druckes oder Zuges.

e) Die erwachsenen Formen.

Dieselben sind rund, oval oder unregelmäßig gestaltet und auch mehr stark amöboid veränderlich; die Größe schwankt zwischen 3,5—5 μ Durchmesser und kann zuweilen 7,5 μ erreichen. Das Protoplasma färbt sich nach Giemsa ungleichmäßig, doch ist im allgemeinen die Blaufärbung an der Peripherie stärker, während sich im Innern eine oder mehrere Vakuolen von verschiedener Größe bemerkbar machen; der Kern befindet sich meist jetzt schon in Teilung; auch der Blepharoplast verlängert sich und beginnt mit der Zweiteilung (Taf. I Fig. 11—14, Taf. II Fig. 8). Bei Individuen, die sich der Sporulation nähern, findet man zuweilen Kernfiguren, welche fadenartig verlängerte Hanteln darstellen und, von dem dicht danebenliegenden Blepharoplasten begleitet, an die Peripherie des Protoplasmas treten, als wenn sie ausgestoßen werden sollten (Taf. I Fig. 15—17, Taf. II Fig. 9). Über die Bedeutung dieses Vorganges, der als Vorläufer der Schizogonie für dieses Stadium charakteristisch ist, kann ich nichts Bestimmtes aussagen; vielleicht handelt es sich um eine Art „Epuration“ von überschüssigem Kernmaterial.

f) Die Sporulationsformen.

Mit dieser Ausstoßung des fadenförmigen Kernteiles scheint gewöhnlich der Teilungsakt zu beginnen. Das Protoplasma tritt buckelartig an der Stelle des Kernaustritts hervor und zieht dabei einen der Blepharoplasten mit der dazu gehörigen Kernsubstanzmenge mit. Ebenso bildet sich an einer anderen Stelle eine derartige buckelige, mit Kern und Blepharoplast versehene Knospe. Allmählich schnüren sich dann diese breiten knospenförmigen Körper von der Peripherie des Protoplasmas ab und werden als Merozoiten frei. Sie besitzen einen Durchmesser von etwa 1,5—2,0 μ. Oft bleiben diese Knospen

noch eine Zeitlang mit dem Rest des mütterlichen Parasitenkörpers, welcher sich noch ziemlich stark blau färbt und oft pünktchenartige Kernsubstanzreste enthält, verbunden (Taf. I Fig. 18—20, Taf. II Fig. 10 u. 11). Wenn die Merozoiten die Verbindnng von dem Restkörper gelöst haben, so bleibt der letztere auf dem Blntkörperchen zurück, meist besteht er nur noch aus Protoplasma, die chromatische Substanz fehlt, wahrscheinlich geht er mit dem Zerfall der Blutzelle zugrunde (Taf. I Fig. 38 oben). Die Anzahl der Merozoiten, die von einem erwachsenen Schizonten gebildet sind, beträgt meist 2—4; doch werden in letzterem Falle auch zunächst zwei nnd dann später die letzten zwei abgestoßen. Die Reihe der bisher erwähnten schizogonischen Formen wird im Anfangsstadinm der Hundepiroplasmosis stets reicher gefunden als im Endstadium, wie schon von einigen Antoren, z. B. Leblanc (20), Nocard und Motas (26), sowie Smith (35) betont wurde.

Wenn man am ersten Tage des Fieberaufsteigens das Zirkulationsblnt eines infizierten Hnndes untersucht, so kann man die zu dieser Reihe gehörigen Formen alle anffinden, während die freien einfachen oder doppelten Birnformen nur in verhältnismäßig geringer Zahl vorhanden sind. Beim Fortschritt des Krankheitsverlaufes nehmen dann sowohl diese schizogonischen Formen als auch die Birnformen zn. Wenn das Fieber seinen höchsten Grad erreicht hat nnd abzufallen beginnt, werden die beiden Sorten dnrchschnittlich in gleicher Menge gefunden. Bei dem zweiten Aufsteigen des Fiebers nehmen dann die Birnformen im Verhältnis zu, während in der von Fieber freien Periode im allgemeinen beide Formengruppen abnehmen; doch kann man vor dem Tode bei akuter schwerer Infektion auch in mäßiger Menge die schizogonischen Formen neben den zahlreichen Birnformen noch finden. Jedenfalls sind diese rundlicheu Formen der Schizonten in allen Stadien des Hnndepiroplasmose vorhanden, während sich die Birnformen erst im Verlaufe der Krankheit einstellen. Wenn man die hier beschriebene Schizogonie dnrch Knospung nur als unregelmäßige Teilung auffassen will, die nicht prinzipiell von der Vermehrung der Birnen abweicht, wie Nuttall und Smith (29) meinen, so stehen wir hier vor der ungeklärten Tatsache, daß das *Piroplasma canis* sich am Anfang immer auf diese unregelmäßige Weise vermehrt. Ferner könnte man vermuten, daß die birnförmigen Parasiten sich anfangs meist im inneren Organe teilen nnd daß sie dann in das periphere Blut als rundliche Formen kommen. Doch findet man die birnförmigen Parasiten in den inneren Organen immer erst nach längerem Bestehen der Krankheit und nicht am Anfang.

Es fanden sich in der Literatur auch Angaben, daß die Anzahl der Parasiten im inneren Organe im allgemeinen größer sei als im Zirkulationsblute; das ist wohl oft der Fall, aber durchaus nicht immer; nach den histologischen Befunden meiner Untersuchungen ist die Zahl der Parasiten z. B. in den Hautkapillaren oft weit größer als in den inneren Organen, wie Niere und Leber. Die Parasiten scheinen in den Kapillaren der Haut allerdings häufig festzusitzen; man erhält daher oft bei gewöhnlicher Blutentnahme nur wenig Parasiten im Blut. Wenn man aber die Entnahmestelle vor dem Eintritt (z. B. das Ohr) etwas massiert und drückt und auf diese Weise die an den Wänden der Kapillaren, ähnlich wie bei der tropischen Malaria, klebenden Parasiten frei macht, so erhält man an derselben Stelle plötzlich ungeheuer zahlreiche Parasiten. Nachdem ich durch zahlreiche vergleichende Untersuchungen unter Berücksichtigung der Verteilungsverhältnisse der Parasiten im Körper das Resultat gewonnen hatte, daß im Anfangsstadium der Krankheit die rundlichen Formen überwiegen und erst nach bestimmter Zeit die Birnformen auftreten, so glaube ich, daß diese Verschiedenheit nicht durch die Verteilung der Parasiten, sondern durch die Krankheitsperiode zustande kommt.

II. Die Gametogonie.

Die Gametogonie ist nach meinen Beobachtungen an die Birnformen geknüpft. Ihre Vermehrungsweise ist die Zweiteilung, wie sie bisher von allen Autoren festgestellt worden ist. Die Gründe, warum ich die Birnformen für die gametogonische Generation halte, sind folgende:

1. Sie werden im Anfangsstadium der Infektion sehr wenig gefunden. Über diese Tatsache habe ich schon bei Besprechung der Schizogonie berichtet. Wenn man die Vermehrung der Birnformen analog der Malaria für das Fieber verantwortlich machen wollte, so könnte man den ersten Fieberaufstieg in einer Zeit, wo die Rundformen (Schizogonie) sehr reich, aber die Birnformen nur spärlich vorhanden sind, nicht erklären.

2. Sie werden im Serum frei zerstreut.

Bei der schweren Malaria und Proteosomakrankheit, bei welchen in einem Gesichtsfelde des Mikroskops zahllose Parasiten gefunden werden, pflegen wir in der Periode der Schizogonie stets die freien

Individuen nur selten zu finden, weil alle durch Schizogonie entstandenen jungen Individuen möglichst schnell in die Blutkörperchen eindringen. Nun werden die Birnformen von *Babesia* erst im späteren Verlauf der Krankheit zahlreich frei im Blut gefunden. Diese Tatsache scheint mir auch für die Gametennatur zu sprechen. Ich glaube aber nicht, daß alle freien Birnformen erwachsene Gameten sind, sondern auch die zur Gametogonie gehörigen, halb oder ganz erwachsenen Individuen, welche aus dem Blutkörperchen ausgeschlüpft sind und deshalb birnförmige Gestalt besitzen, befinden sich ebenfalls darunter. Wie wir sehen werden, kann man aber beide Birnformen an der Struktur des Zelleibes leicht unterscheiden.

3. Durch Vergleichung mit den Gameten anderer Hämosporidien. Daß der männliche und weibliche Gamet von Protozoen die verschiedenen Zellbestandteile in charakteristischer Weise, welche mit ihrer Funktion bei der Befruchtung zusammenhängt, ausgebildet haben, ist bekannt. Der männliche Gamet besitzt z. B. meist nur eine kleine Menge vegetativer Kernsubstanz, während die animalische reich entwickelt ist. Die letztere wird bei einigen Protozoen (Trypanosomen) mit dem Blepharoplasten identifiziert, und diese Substanz tritt hauptsächlich bei der Ausbildung der Mikrogameten in Aktion. Beim weiblichen Gameten überwiegt dagegen die vegetative Kernsubstanz, während die animalische in geringer Menge entwickelt ist. Ähnliche Verschiedenheiten der Kernverhältnisse können wir nun auch bei den Birnformen der *Babesia* herausfinden, dieses ist ein weiterer Grund für ihre Gametennatur. Ich möchte nun im Folgenden diese beiden Gametenformen etwas genauer beschreiben.

Männliche Gametocyten.

Sie sind birnförmig von 5,0 μ Länge und 2,0—2,5 μ Breite, verändern sich aber zuweilen zur Rundform von etwa 3,0—3,5 μ Durchmesser. Das Protoplasma ist homogen, meist ohne Vakuolen und färbt sich nach Giemsa gleichmäßig hellblau. Der Blepharoplast ist meißt rundlich und mißt 0,7—1,0 μ im Durchmesser, er färbt sich nach Giemsa von dunkel blaurot bis violett. Der Kern ist meist von unregelmäßiger Form, oft nur von kleinen, im Protoplasma zerstreuten Chromatinkörnchen gebildet. Wenn er kompakter ist, so kann seine Größe etwa 0,5—1,2 μ betragen, jedenfalls ist sein Volumen verhältnismäßig geringer als das des Blepharoplasten, er färbt sich in den Nuancen von hell- bis dunkelrot (Taf. I Fig. 40, 41, 46 B, 50 B, Taf. II Fig. 20 u. 21). Er kann eine lange Geißel bilden (Mikrogamet?), die stets aus dem Blepharoplasten ihren

Ursprung nimmt, sich rot färbt und oft einige körnchenartige Verdickungen aufweist. Die längste von mir beobachtete derartige Geißel maß etwa 15,0 μ, stets wurde nur die Ausbildung eines derartigen Gebildes beobachtet. Nach meinen Untersuchungen stellte diese Geißel in gewöhnlichen Präparaten immer nur einen kurzen Fortsatz dar. Nur in dem mit 5—2,5 proz. Natrium citricum-Lösung behandelten Blute fand ich sie so lang, wie es Taf. I Fig. 41 und Taf. II Fig. 21 darstellen.*)

Weibliche Gameten.

Sie sind auch birnförmig, von etwa 5,0—6,5 μ Länge und 3,0 bis 3,5 μ Breite; die Gestaltveränderung zur Rundform kommt häufiger als bei den männlichen Formen vor; die Rundform besitzt mindestens 4,0 μ Durchmesser. Das Protoplasma ist nicht so homogen wie bei den Mikrogametocyten, sondern etwas granuliert, Vakuolen fehlen gewöhnlich auch hier. Das Protoplasma färbt sich nach Giemsa dunkelblau. Der Blepharoplast ist sehr klein, so daß er kaum ein Viertel des männlichen erreicht. Demgegenüber ist die Menge der vegetativen Kernsubstanz sehr groß; sie kann, wenn sie in kompakter Gestalt vorliegt, einen Durchmesser von 2,0 μ erreichen (Taf. I Fig. 42—46 A, 50 C, Taf. II Fig. 22 u. 23). Bei den reifen derartigen Formen kann man Kernveränderungen feststellen, die an die Reduktionsvorgänge bei anderen Protozoen erinnern. Man beobachtet Kernteilung und Ausstoßung von Kernbestandteilen aus dem Protoplasma (Taf. I Fig. 44, Taf. II Fig. 23). Als Vorbereitung für die Kopulation, Lagerung des reduzierten Kernes an die Peripherie

*) Anmerkung der Redaction: Es könnte auffällig erscheinen, daß der Autor hierbei nicht der von Schaudinn (Generations- und Wirtswechsel von Trypanosoma und Spirochaete. Arb. kais. Gesundheitsamt Vol. 20 1904) in den Kossel-Weber'schen Präparaten gesehenen Flagellatenformen und ihrer Deutung gedenkt. Schaudinn hatte aber, wie er mehrfach geäußert, die Absicht, persönlich (vermutlich in einem Nachtrag zu dieser unter seiner Leitung hergestellten Arbeit) Stellung zu dieser Frage zu nehmen gegenüber den verneinenden Angaben von Koch u. a. Herr Dr. Fülleborn hat uns hierzu noch mitgeteilt, daß es auch neuerdings im Institut für Schiffs- und Tropenhygiene in Hamburg gelungen sei, die Flagellatenformen in mit Natrium-Citricum-Lösung behandeltem Blut zu erhalten, und zwar in solcher Menge, daß sie im frischen, gut beweglichen Zustande sogar allgemein in einem größeren Kurs demonstriert werden konnten. Unter andern habe Herr Dr. von Raven und Herr Stabsarzt Dr. Werner sie deutlich beobachten können. An der Existenz flagellatenartiger Formen, die für die von Schaudinn vertretene phylogenetische Beziehung zu den Trypanosomen sprechen, kann somit nicht mehr gezweifelt werden.

und Ausbildung eines Plasmavorsprunges (Empfängniseihügel?) könnte man vielleicht ein Stadium wie Taf. I Fig. 45 deuten.

Die Differenzierung dieser beiden als Gameten gedeuteten Birnformen findet sich nicht nur bei den freien Formen ausgeprägt, sondern auch bei den jüngeren, noch in den Blutkörperchen sitzenden Parasiten (Taf. I Fig. 37). Ich glaube nun, daß diese Gameten, wie bereits erwähnt, sich selbständig durch Teilung vermehren, einen Vorgang, den wir Gametogonie nennen müssen, und werde im folgenden die Formenreihe, die ich für die gametogonische halte, genauer beschreiben.

a) Die Jugendformen.

Nach Analogie mit anderen Protozoen nehme ich an, daß die gametogonische Generation sich durch Differenzierung der indifferenten, durch Schizogonie entstandenen Merozoiten ausbildet. Als Ausgangspunkt wähle ich daher die freien rundlichen Merozoiten. Wenn diese sich zu Schizonten entwickeln, so behalten sie nach dem Eindringen in die Blutkörperchen, wie früher geschildert, doch ihre rundliche, scheibenförmige Gestalt; wenn sie Gametocyten werden, so nehmen sie sogleich Birnform an und sind also schon in dieser kleinsten Gestalt von den jungen Schizonten zu unterscheiden. Die kleinsten derartigen, bereits birnförmigen intrazellulären Stadien sind ca. 2,0 μ lang und 1,5 μ breit. Das Protoplasma färbt sich bei ihnen ganz gleichmäßig tiefblau, Vakuolen sind nicht wahrzunehmen, der Kern ist meist rundlich, der Blepharoplast sitzt auf oder dicht neben dem Kern als kleine rundliche Kugel (Taf. I Fig. 21, Taf. II Fig. 12). Beim weiteren Wachstum (bis 3,5 μ Länge und 2,5 μ Breite) treten im Protoplasma erst eine und dann mehrere Vakuolen auf. Der Kern und Blepharoplast werden durch diese Vakuolen dann meist voneinander getrennt (Taf. I Fig. 22).

b) Die beweglichen Individuen.

Die Bewegung der birnförmigen Parasiten ist meist weniger lebhaft als die der Rundformen, sie besteht aus Veränderungen des Umrisses des Protoplasmas. An der Peripherie des Protoplasmas beobachtet man eine Art von wellenförmiger Bewegung. Lange Pseudopodien, die nach verschiedenen Richtungen auslaufen, werden im Gegensatz zu den Schizonten nicht gebildet (Taf. I Fig. 23—25). In diesem Stadium verlängert sich der Kern oft um die Vaknole herum und bildet mit dem Blepharoblasten eine Siegelringform (Taf. I Fig. 23, 25, 26, Taf. II Fig. 13).

c) Halberwachsene Formen.

Sie besitzen ebenfalls Birnform und sind etwa 4,0—4,5 μ lang und 2,5—3,0 μ breit. Sie erscheinen einem unreifen Gameten ähnlich, doch kann man sie dadurch unterscheiden, daß die bei den Gameten gebildete Differenzierung der Kerne noch nicht ausgebildet ist und daß der Farbenton des Protoplasmas mehr mit dem der beweglichen Schizonten übereinstimmt (Taf. I Fig. 26, Taf. II Fig. 13).

d) Die erwachsenen Formen.

Sie messen 4,0—4,5 μ in der Länge und 3,0—3,5 μ in der Breite. Das Protoplasma zeigt meist einige große oder kleine Vakuolen und färbt sich etwas tiefer als die unreifen Gameten; die Kernsubstanz nimmt außerordentlich zu, und es beginnt schon die Teilung, indem sie sich zuerst verlängert, in der Mitte verengt und sich dann in zwei Hälften durchschnürt, welche im allgemeinen dreieckige Gestalt besitzen und tiefrot gefärbtes Chromatin und ein Karyosom erkennen lassen; der Blepharoplast bleibt meist noch ungeteilt kugel- oder stäbchenförmig. Im allgemeinen sitzt der Kern im Randteile des Parasiten, der Blepharoplast dagegen in der Spitze der Birne (vgl. Taf. I Fig. 27, 28, 20, 33 rechts, Taf. II Fig. 14 u. 15).

e) Die Teilungsformen.

Diese Formen und ihre Teilungsweise sind von verschiedenen Autoren wiederholt beschrieben worden; ich will daher hier nur noch einige Bemerkungen hinzufügen. Wie oben erwähnt, erfolgt die Teilung des Blepharoplasten meist später als die des Kernes, nur in seltenen Fällen ist es umgekehrt (Taf. I Fig. 38 unten). Seine Teilnng beginnt mit einer Verlängerung, es bildet sich ein Stäbchen, das sich dann in der Mitte verengt und durchschnürt: die auf diese Weise geteilten Blepharoplasten begeben sich dann, ebenso wie die beiden Kerne, nach entgegengesetzten Seiten des Protoplasmas (vgl. Taf. I Fig. 30, 32, 33, Taf. II Fig. 14 u. 15). Die Längsteilung des Protoplasmas setzt meistenteils bald nach der Durchschnürung des Blepharoplasten ein (Taf. I Fig. 31—33 links, Taf. II Fig. 15), doch kann sie auch schon vorher beginnen (Taf. I Fig. 30). Noch vor der vollständigen Trennung der beiden Tochterindividuen sieht man oft schon, daß die Kerne wieder die Teilung beginnen (Taf. I Fig. 32 u. 33 links). In solchen Fällen zeigen die Parasiten dann Bilder von vier gekreuzten Individuen (Taf. I Fig. 34). Auf diese Weise vermehren sich die Parasiten durch fortgesetzte Längsteilung von 2 bis auf 16 Individuen, wie von Nocard und

Motas (26), Nuttall und Smith (29) bereits festgestellt worden ist (Taf. I Fig. 32, 33, 39, 34, 35, 36, Taf. II Fig. 16—19). Wenn die Infektion leicht ist oder von Anfang an chronisch verläuft, so findet man selten Gruppen von so vielen Individuen vor; sie pflegen dann meist die Zahl 8 nicht zu überschreiten.

Die auf diese Weise entstandenen jungen Gameten entwickeln sich auf dem Blutkörperchen, bis sie die vollständige Reife erreichen. Wenn das infizierte Blutkörperchen nicht bei der Gametogonie zugrunde geht, so wird ihr Wachstum auf demselben fortgesetzt; doch gelangen in den meisten Fällen die jungen Gameten nach dem Zerfall der infizierten Blutzellen ins Serum und bleiben hier in schwimmender Bewegung, um sich dann schließlich auf einem neuen Blutkörperchen festzuheften und sich darauf zu entwickeln.

Aus der bisherigen Beschreibung können wir resumieren, daß die in dem Blutkörperchen liegenden oder von demselben freien birnförmigen Parasiten drei verschiedene Bedeutungen haben, nämlich:

1. die zur Gametogonie schreitenden indifferenten, d. h. noch nicht zweigeschlechtlich differenzierten Formen (Taf. I Fig. 21, 22, 26—29; Taf. II Fig. 12 u. 13),
2. die durch die Gametogonie entstandenen jungen Gameten, welche noch auf dem zuerst infizierten Blutkörperchen bleiben (Taf. I Fig. 34—36, 39; Taf. II Fig. 16—19),
3. die nach der Teilung wieder auf neue Blutkörperchen gelangten und zur Reife fortschreitenden Gameten (Taf. I Fig. 37).

Unter den freien Parasiten unterscheiden wir

1. die reifen Gameten (Taf. I Fig. 40—46; Taf. II Fig. 20—23),
2. gametogonische Entwicklungsformen, welche sich durch die Präparation von dem Blutkörperchen abgelöst haben,
3. die nach der Gametogonie von dem Blutkörperchen freigewordenen jungen Gameten.

Befruchtung.

Untersuchungen über die Befruchtung der *Babesia canis*, die im Zwischenwirt, der Zecke, stattfinden dürfte, liegen bisher nicht vor. Da ich auch leider keine Gelegenheit hatte, derartige Untersuchungen anzustellen, so möchte ich hier nur einige Bilder kurz skizzieren, die vielleicht mit der Befruchtung in irgend einer Beziehung stehen, ohne aber eine bestimmte Ansicht darüber zu äußern.

Im Herzblute eines Hundes 4 Stunden nach dem Tode fand ich folgendes merkwürdige Stadium. Seine Größe maß etwa 4 μ; es

war aber auffallend groß gegenüber den übrigen Parasiten, die sich nach dem Tode der schwer infizierten Tiere stets bald abrunden, kontrahieren und verkleinern, so daß die freien weiblichen Gameten dann ca. 2,0—2,5 μ, die männlichen Gameten 1,5—2,0 μ, die in den Blutkörperchen liegenden Individuen 1,0—1,5 μ Durchmesser besitzen. Die Gestalt dieser großen Form ist trapezförmig, an den einander gegenüberliegenden beiden Ecken läßt sich ein langer geißelähnlicher Fortsatz von 8,0 μ Länge nachweisen; das Protoplasma färbt sich wie bei einem reifen weiblichen Gameten. Nahe der Peripherie befindet sich eine große Vakuole, in deren Nähe sich ein rundlicher Kern von etwa 1,0 μ Größe bemerkbar macht; zwischen der Vakuole nnd der Peripherie des Protoplasmas bemerkt man zwei kleine Blepharoplasten (Taf. I Fig. 47, Taf. II Fig. 24). Da dieser Parasit in bezug auf die Größe, Struktur und Gestalt weder in die gametogonische noch schizogonische Formenreihe hineinpaßt, so ist es vielleicht nicht ausgeschlossen, daß er eine Kopulationsform darstellt. Es wäre denkbar, daß der zweite Blepharoplast vom eingedrungenen Mikrogameten herrührt, während die Kerne bereits verschmolzen sind. Einige weitere abweichende Formen fand ich bei Ausstrichen von inneren Organen. Die eine stammt aus einem Pankreaspräparat 10 Stunden nach dem Tode. Ihre Gestalt ist die eines unregelmäßigen Dreiecks, wie Taf. I Fig. 48 und Taf. II Fig. 25 zeigt, die Länge beträgt 5,5 μ, die Breite 3,0 μ; das Protoplasma färbt sich im größten Teile des Körpers schwarzblau, nur der spitze Teil dunkelblau; in zwei Drittel vom stumpfen Ende befindet sich eine kleine Vakuole, das Protoplasma ist etwas granuliert, der Kern sitzt im Mittelteil des Körpers neben der Vakuole und besitzt birnförmige Gestalt; demgegenüber, jenseits der Vakuole, liegen zwei Blepharoplasten; auch werden im stumpfen Teile kleine Partikel von chromatischer Substanz zertreut bemerkt. Diese Form scheint mir eine gewisse Ähnlichkeit mit dem von der Kopula zum Ookineten übergehenden Stadium der Malariaparasiten zu besitzen. Ein zweites Stadium wurde in dem Lungenausstrich derselben Leiche gefunden, seine Gestalt ist ganz ähnlich einem Ookineten von Malaria, die Länge beträgt 6,5 μ, die Breite 2.0 μ; das Protoplasma färbt sich tiefblau und zeigt einige größere und kleinere Vakuolen, der Kern ist rundlich von etwa 2,0 μ Durchmesser, färbt sich an der Peripherie tiefrot, in der Mitte hellrot und sitzt im hinteren Viertel des langgestreckten Parasiten; der Blepharoplast ist im Kern eingeschlossen (oder anliegend?) und ragt über die Peripherie desselben als kleines Kügelchen hervor (Taf. I Fig. 49). Mit dieser Form ähnliche In-

dividuen wurden auch aus der Milz und Leber einer anderen Leiche 8 Stunden nach dem Tode gefunden. Obwohl ich diese Individuen für Ookineten zu halten geneigt bin, zögere ich doch, mich hierüber mit Sicherheit zu äußern, bis ich die Gelegenheit haben werde, mit den Zecken zu experimentieren.

Dauerformen.

Lignières (21) hat mitgeteilt, daß, wenn man sehr parasitenreiches Blut von Piroplasmosis des Rindes in den hämoglobinhaltigen Serumnährboden impfte, sich die Parasiten schnell zu rundlichen Formen veränderten, und daß sie bis zur fünften Generation von Nährboden zu Nährboden übertragen werden könnten, ferner, daß sie mit Hilfe dieses Nährbodens in lebendem Zustande von Argentinien nach Frankreich übersandt werden könnten. Damals glaubte Verfasser, auf diese Weise eine künstliche Reinkultur von *Piroplasma bigeminum* erzielt zu haben, er nannte diese rundliche Form von Parasiten passive Sporen, gegenüber den aktiven Sporen, die sich im Blut lebender Tiere vermehren. Diese Sporen werden aber von Doflein und Kossel so erklärt, daß sie gar nicht Vermehrungsstadien sind, sondern daß es sich um eine allmähliche Umwandlung des Protoplasmas der Parasiten infolge der ungünstigen Einflüsse, denen sie außerhalb des Tierkörpers ausgesetzt sind, handele (vgl. auch die Angaben von Kossel, Schütz, Weber und Miessner (18)). Nach den genannten Autoren kann *Piroplasma bigeminum* im steril aufgefangenen und im Eisschrank aufbewahrten defibrinierten Blute kranker Tiere 60 Tage lang die Lebens- und Ansteckungsfähigkeit behalten, ebenso wie *Piroplasma canis* nach Nocard und Motas (26) 25 Tage lang. Nach den Beobachtungen dieser Forscher erhalten sich die Parasiten im so behandelten Medium als kleine Kügelchen; zuweilen zerfällt das Protoplasma derselben und es bleibt nur eine Chromatinkugel übrig, doch blieb es bisher unklar, welchem Stadium diese überlebenden Parasiten angehören.

Ich habe Gelegenheit gehabt, das im Eisschrank 39 Tage lang aufbewahrte Blut eines schwer infizierten Hundes sukzessive zu untersuchen und konnte durch diese Beobachtungen feststellen, daß die am längsten übrigbleibenden Parasiten wahrscheinlich weibliche Gameten darstellen. Ich will im folgenden über die aus jedem Präparat gefundenen Individuen etwas berichten und die Befunde in einer Tabelle zusammenstellen.

A-Formen: Sie liegen im Blutkörper und sind scheibenförmig, ihre Größe schwankt zwischen 3,0 und 4,5, das Protoplasma färbt sich nur an der Peripherie stark, doch ungleichmäßig, die Mitte glänzt perlartig, der Kern ist meist rund oder bei einigen unregelmäßig und liegt oft an der Peripherie des Protoplasmas, er färbt sich tiefrot, der Blepharoplast findet sich meist im Kern oder neben demselben.

B-Formen: Sie sind der A-Form ähnliche Scheiben, aber das Protoplasma färbt sich verhältnismäßig gleichmäßiger und tiefer als bei jenen, oft werden in einem Blutkörperchen 2 oder 4 gefunden.

Diese beiden Formen scheinen mir im frischen Präparat die zu den schizogonischen und gametogonischen Fortpflanzungsformen gehörigen Parasiten gewesen zu sein, Zerfall- und Degenerationsformen wurden unter ihnen häufig gefunden, derart, daß alle Zellbestandteile den Farbstoff nicht mehr ordentlich annahmen, und das Protoplasma ein netzartiges Aussehen erhielt.

C-Formen: Sie wurden frei vom Blutkörper gefunden, sind von runder Gestalt, im Durchmesser messen sie etwa ein Sechstel eines roten Blutkörperchens, das Protoplasma färbt sich ziemlich stark blau und gleichmäßig, es ist ohne Vakuolen, an der Peripherie sitzen ein großer kugelförmiger Blepharoplast und ein rundlicher oder hantelförmiger Kern nebeneinander. Diese Form halte ich wegen der Kernverhältnisse für eine Umwandlung der reifen männlichen Gameten.

D-Formen: Sie besitzen etwa 2.5—3.5 μ Durchmesser, sind von kugeliger Gestalt und auch frei von Blutzellen, das Protoplasma färbt sich ziemlich stark blau und ist etwas granuliert, es zeigt meist einige Vakuolen, in denen oft der Kern und der Blepharoplast eingeschlossen werden (Taf. I Fig. 51, 58; Taf. II Fig. 26), doch werden diese beiden Chromatinsubstanzen auch außerhalb der Vakuolen gefunden. Diese Form scheint mir wegen ihrer Struktur als die veränderte abgerundete Form der reifen weiblichen Gameten gedeudet werden zu müssen.

E-Formen: Es sind große Individuen von dem Durchmesser eines ganzen oder halben roten Blutkörperchens, frei im Serum, das Protoplasma zeigt viele ungefärbte Stellen und erscheint deswegen netzartig, der Kern ist aufgelöst, man bemerkt nur noch faden- oder punktförmige chromatische Elemente ganz unregelmäßig im Protoplasma zerstreut, die Färbbarkeit ist sehr schwach, der Blepharoplast ist noch rundlich, zuweilen fanden sich zwei (Taf. I Fig. 52).

F-Formen: Die Struktur von Kern und Blepharoplast ist mit

der E-Form ähnlich, doch hat das Protoplasma gar nicht mehr die Blaufärbungsfähigkeit wie jene, sondern färbt sich gleichmäßig hell und diffus, Größe 6,0—7,0 μ (Taf. I Fig. 53).

Die beiden Formen stellen nicht mehr deutbare Zerfallsprodukte der Parasiten dar.

G-Formen: Sie besitzen etwa 4,5—5,5 μ Durchmesser, sind rundlich, der Farbenton des Protoplasmas ist ganz ähnlich wie bei der E-Form, doch etwas heller als dort, der Kern ist ebenso wie dort zerfallen, der Blepharoplast stark geschwollen von 0,5—1,0 μ Größe, er färbt sich an der Peripherie ziemlich stark rot, in der Mitte ganz hell (Taf. I Fig. 54 u. 55).

H-Formen: Es sind sehr große rundliche Individuen von etwa 7,0—8,0 μ Durchmesser; sie wurden in dem über acht Tage aufbewahrten Blute gefunden, der Farbenton ist wie bei der F-Form, doch ist die Kernsubstanz fast ganz verschwunden, so daß keine einzelnen roten Körnchen gefunden werden können, der Blepharoplast ist noch erhalten und dem der G-Form ähnlich (Taf. I Fig. 56, Taf. II Fig. 27).

I-Formen: Es sind kleine ovale Individuen von etwa 2,0 μ Größe, ihr Zelleib färbt sich hell, doch an der Peripherie ziemlich stark, so daß man dort das Vorhandensein eines Periplastes vermuten könnte; der Kern und Blepharoplast besitzen noch rundliche Form und färben sich ziemlich stark (Taf. I Fig. 57). Diese Form wurde auch aus dem nach 12 Tagen gemachten Präparat gefunden, und sie sowie die G- und H-Form scheinen mir Degenerationsformen von Makrogameten zu sein.

Tabelle:

Form		A	B	C	D	E	F	G	H	I
Anzahl der im Eisschrank zugebrachten Tage	1	+	+	+	+	+	.	.	.	.
	2	+	+	+	+	+	+	.	.	.
	3	.	.	.	+	+	+	.	.	.
	4	.	.	.	+	.	.	.	.	.
	7	.	.	.	+	.	.	+	.	.
	12	.	.	.	+	.	.	+	.	.
	25	.	.	.	+	.	.	+	+	+
	39	.	.	.	+	.	.	+	+	+

Nach diesen vergleichenden Beobachtungen halte ich es für wahrscheinlich, daß, wenn man parasitenreiches Blut der Hunde-

Tabelle
der pathologisch-anatomischen Befunde.

1. Nummer des Versuchstieres.	I	II.	III.	IV.
2. Zwischen Tod und Obduktion verstrichene Zeit.	1 Stunde.	7—8 Stunden.	10 Stunden.	8 Stunden.
3. Geschlecht des Tieres.	♀	♀	♂	♂
4. Ernährungszustand.	Gut.	Schlecht.	Gut.	Schlecht.
5. Schleimhaut des Mundes und Augenbindehaut.	Ikterisch, etwas trocken.	Nicht ikterisch, trocken.	Wie Nr. II.	Wie Nr. II u. III.
6. Unterhautzellgewebe und Muskulatur.	An der Bauchseite entzündliches Ödem,[1]) Muskulatur normal — Mikr.: Erweiterung der Hautkapillaren mit zahlreichen Parasiten.	Normal. Mikr. wie Nr. I.	Wie Nr. II.	Wie Nr II u. III.
7. Milz.	Vergrößert, Konsistenz weich, schwarzrötliche Farbe, die Schnittfläche ist blutreich und brüchig. — Mikr.: Die Kapillaren der Trabekeln sind bedeutend erweitert und von großen Mengen von Erythrocyten mit Parasiten sowie zahlreichen Leukocyten angefüllt.	Wie Nr. I. Desgl.	Wie Nr. I u. II. Desgl.	Wie Nr. I, II u. III. Desgl.
8. Leber.	Etwas vergrößert, Konsistenz ziemlich hart, gelblich dunkelrote Farbe, blutreich. — Mikr.: Erweiterung der Blutkapillaren, zahlreiche Parasiten, Verminderung der Färbungsfähigkeit der Zellen im Centrum der Acini, Erweiterung und stellenweise Verstopfung der Gallenkapillaren.	Sehr wenig vergrößert, Konsistenz normal, dunkelrötliche Farbe, blutreich. — Mikr.: Erweiterung der Blutkapillaren, die Gallenkapillaren sind fast intakt.	Fast wie Nr. I, doch fehlt die Verstopfung der Gallenkapillaren.	Fast wie Nr. I, sehr charakteristische Zeichnung auf der Schnittfläche, das Centrum der Acini ist gelblich, die Peripherie rot gefärbt.

9. Nieren.	Schwarze Farbe, Kapsel abziehbar, die Schnittfläche ist blutreich und glänzend, auf Druck quillt eine dunkelbräunliche Flüssigkeit hervor. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren, zahlreiche Parasiten, insbesondere in den Glomerulis, Verstopfung der Harnkanälchen mit Blutpigmentkörnchen.	Fast wie Nr. I.	Fast wie Nr. I, doch ist keine Flüssigkeit ausdrückbar, auch fehlt die Verstopfung der Harnkanälchen mit Blutpigmentkörnchen.	Wie Nr. I u. II.
10. Nebenniere.	Makr.: Normaler Befund. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren.	Wie Nr. I.	In der Mitte Erweichung mit eiterartiger Flüssigkeit Mikr.: Die Kavernenwand ist nekrotisch, Erweiterung und Neubildung der Kapillaren in dem umgebenden Gewebe.	Wie Nr. III.
11. Harnblase.	Enthält eine kleine Menge durchsichtigen rötlichbraunen Urins.	Enthält undurchsichtigen schwarzroten Urin.	Enthält eine kleine Menge trüben, gelben Urin.	Enthält eine ganz kleine Menge dunkelroten Urins.
12. Pankreas.	Makr.: Ohne Befund. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren.	Wie Nr. I.	Schleimhaut katarrhalisch. Wie Nr. I.	Hyperämisch. — Mikr.: Wie Nr. I.
13. Magen- und Darmschleimhaut.	Subakut entzündet.	Wie Nr. I.	Akute Entzündung, einige Ekchymosen.	Wie Nr. III.
14. Herzbeutel.	Enthält keine vermehrte Flüssigkeit.	Enthält ca. 25 ccm rotgelblicher Flüssigkeit.	Wie Nr. II.	Wie Nr. II.
15. Herz.	Im rechten Ventrikel flüssiges Blut, Muskel etwas blaß und weich. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren, ziemlich zahlreiche Parasiten.	Wie Nr. I.	Wie Nr. II.	Wie Nr. II.
16. Lungen.	Etwas blutreich. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren.	Sehr blutreich. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren und geringe hämorrhagische Infiltration mit zahlreichen Parasiten und Leukocyten.	Ödem, in den unteren Lappen hämorrhagische Infiltration. — Mikr.: Wie Nr. II.	Ödem. — Mikr.: Wie Nr. I.
17. Lymphdrüsen.	Nicht vergrößert. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren.	Wie Nr. I.	Wie Nr. I.	Wie Nr. I.
18. Gehirn.	Pia mater etwas hyperämisch, Hirnsubstanz normal. — Mikr.: Erweiterung der Kapillaren, ziemlich zahlreiche Parasiten.	Fast normal. Mikr.: Fast wie Nr. I.	Wie Nr. I.	Piamater und Hirnsubstanz sehr blutreich. — Mikr.: Wie Nr. I.
19. Knochenmark.	Tiefrot und blutreich. — Mikr.: Auf Ausstrich, ziemlich zahlreiche Parasiten.	Wie Nr. I.	Wie Nr. I.	Wie Nr I. Die Parasiten waren im Rückenmark am zahlreichsten.

[1]) In der Haut hat er eine Stichwunde.

piroplasmosis im Eisschrank aufbewahrt, die im Blutkörperchen enthaltenen Stadien, wie die Schizonten und unreifen Gameten, ferner die reifen männlichen Gameten, spätestens in 4 Tagen zugrunde gehen, und nur die reifen weiblichen Gameten übrig bleiben, daß diese Individuen jedoch nach 7 Tagen durch Degeneration allmählich verringert werden, daß aber noch nach 39 Tagen einzelne Individuen erhalten geblieben sind.

Anatomische Befunde.

Als anatomische Befunde wurden von Smith und Kilborne (34), Kossel (17), Koch (13), sowie Laveran und Nicolle (19) folgende registriert: Ödem und ikterische Färbung des subkutanen Bindegewebes, besonders bei hochgradig entwickelter Anämie, Ekchymosen unter dem Epi- und Endocard, Trübung oder beginnende fettige Degeneration der Muskelfasern des Herzens, hochgradige Vergrößerung, dunkelrote Farbe der Schnittfläche der Milz, Vergrößerung und ikterische Färbung der Leber, bei welcher zuweilen auf der Schnittfläche eine charakteristische Veränderung konstatiert wurde, derart, daß das Centrum der Acini gelblich, die Peripherie rot gefärbt war, Erfüllung der Gallenblase mit dickflüssiger Galle, hämorrhagisch-ödematöse Infiltration des perinealen Bindegewebes, schwarzrote Färbung der Rindensubstanz der Nieren, welche auf Druck reichlich dünne rötliche Flüssigkeit austreten lassen, Hämorrhagien der Nierenbeckenwand, Hyperämie oder zuweilen Ekchymosen der Schleimhaut der Verdauungsorgane, Exsudat der serösen Häute usw.

Als bemerkenswerte mikroskopische Befunde wurden von den genannten Autoren die Veränderungen von Leber und Nieren beschrieben. Bei der Leber soll die nekrotische Veränderung der Zellen der intralobulären Venen und die Erfüllung der Gallenblase mit dickflüssiger Galle, bei der Niere die Erweiterung und Erfüllung der Blutkapillaren nebst Verstopfung der Harnkanälchen mit Blutpigmentkörnchen charakteristisch sein.

Der pathologische Befund der Hundepiroplasmose ist nach Piana und Galli-Valerio (31), Nocard und Motas (26), Theiler (37) u. a. demjenigen der Rinderpiroplasmose ähnlich, obwohl je nach dem Grade der Infektion mehr oder weniger große Verschiedenheiten vorhanden sind. Außerdem ist vor kurzem von Smith (35) auf das Vorkommen von Lungenödem hingewiesen worden.

Im allgemeinen findet man in den Kapillaren verschiedener Organe große Mengen von Parasiten, die sich durch Kontraktion

kugelig abgerundet und verkleinert haben; ihre Anzahl ist meist in Niere, Leber und Milz am reichsten.

Die Resultate meiner Untersuchung haben im allgemeinen keine großen Verschiedenheiten von den oben erwähnten Befunden, wie aus umstehender Tabelle der Sektionsbefunde hervorgeht, ergeben. Ich will hier nur einige Befunde, welche meines Wissens noch nicht bemerkt worden sind, kurz erwähnen.

In zwei Fällen unter vier fand ich Erweichung der Nebenniere, bei welcher sich im Centrum eine Kaverne gebildet hatte, worin eine kleine Menge einer weißgelblichen eiterartigen Flüssigkeit enthalten war; im Ausstrichpräparate dieser Stelle fand ich ebenso zahlreiche Parasiten wie in der Niere und der Leber. Doch kann ich nicht erklären, warum eine solche starke Veränderung hauptsächlich bei diesem Organe zustande gekommen war, während bei anderen nur leichte Entartung gefunden wurde. Ferner habe ich bei zwei Fällen Lungenödem gefunden, wie Smith (35) es bemerkt hat, außerdem bei einem hämorrhagische Infiltration der Lunge. Ein Vergleich der Parasitenanzahl in den Hautkapillaren und in denen der inneren Organe ergab verschiedene Resultate. Im allgemeinen fand ich die Zahl der Parasiten in der Haut nicht geringer als in den inneren Organen, zuweilen aber sogar größer, wie bereits früher erwähnt wurde.

Hamburg, den 11. Februar 1906.

Literaturverzeichnis.

1) Argutinski: Malaria-Studien „Zur Morphologie des Tertian-Parasiten". Arch. mikrosk. Anat., V. 59 1901, V. 61 1902.

2) Almy: Bull. Soc. centr. méd. vét 1901.

3) Babes: Bemerkungen über die Entdeckung des Parasiten der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes und des Carsesg des Schafes. Centralbl. Bakteriol. etc., I. Abt. (Orig.) V. 33 1903.

4) Bowhill & Douse: A contribution to the study of piroplasmosis canis. Malignant faundice of the dog (Hutcheon). Journ. Hygiene 1904.

5) Celli & Sartori: I. Die Rindermalaria in der Campagna von Rom.

—: II. Die Inkubationsdauer des Malariafiebers nach der Behandlung mit Blutserum von immunen Tieren. Centralbl. Bakteriol. etc., V. 21 1897.

6) Christophers: I. A preliminary Report on a parasite found in persons suffering from enlargement of the spleen in India.

—: II. A parasite found in persons suffering from enlargement of the spleen in India.

—: III. A parasite found in persons suffering from enlargement of the spleen in India. Rep. Scient. memoirs by officers of the med. and sanitary Departm. of the Govern. of India 1904. I Heft 8. II Heft 11. III Heft 15.

7) Claude & Soulie: Bull. Soc. centr. méd. vét. 1901.
8) Doflein: Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena 1901.
9) Dschunkowsky & Luhs: Die Piroplasmosen der Rinder. Centralbl. Bakteriol. etc., I. Abt. (Orig.) V. 35 1904.
10) Galli-Valerio: Manate de pathologia generale comparata e sperimentale. 1896.
11) —: Zusammenfassende Übersicht über Piroplasmose des Hundes. Centralbl. Bakteriol. etc., I. Abt. (Ref.) 1904.
12) Huns: Chnensland agricnlt. Jonrn. 1897.
13) Koch: Reisebericht etc. 1898.
14) —: Deutsches Kolonialblatt 1904 Nr. 14 u. 15.
15) —: Vorläufige Mitteilnng über die Ergebnisse einer Forschnngsreise nach Ostafrika. Deutsche med. Wochenschr., Nr. 47 1905.
16) Kossel & Weber: Über die Hämoglobinurie der Rinder in Finnland. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, V. 17 1900.
17) Kossel: Die Hämoglobinurie der Rinder. Handb. d. path. Mikroorg., Kolle u. Wassermann, V. I 1903.
18) Kossel, Schütz, Weber, Miessner: Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, V. 20 1903.
19) Laveran & Nicolle: Compt. rend. Soc. Biol. 1899.
20) Leblani: Piroplasma canis. Ictère infectieux dn chien. Compt. rend. Soc. Biol. 1900.
21) Lignières: Compt. rend. Soc. Bactériol. et Parasitol. 1900.
22) —: La piroplasmose bovine. Arch. Parasitol. 1903.
23) Marchoux: Piroplasma canis (Lav.) chez les chiens dn Senegal. Compt. rend. Soc. Biol. 1900.
24) Nevermann: Berlin. tierärztliche Wochenschr. 1901.
25) Nocard & Almy: Recueil méd. vét. 1901.
26) Nocard & Motas: Piroplasmose canine. Ann. Inst. Pastenr 1902.
27) Nocard: Bull. de la Soc. centr. de méd. vét. 1902.
28) Nuttal: I. Canine piroplasmosis. Journ. Hyg. 1904.
29) Nuttal u. Smith: II. Canine piroplasmosis. Jonrn. Hyg. 1905.
30) Smith: III. Canine piroplasmosis. Jonrn. Hyg. 1905.
31) Piana & Galli-Valerio: Moderno Zoojatro 1895.
32) Piana: Moderno Zoojatro 1896.
33) v. Prowazek: Studien über Sängetier-Trypanosomen. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, V. 22 1905.
34) Schaudinn: Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax etc. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, V. 19 1902.
35) Smith & Kilborne: U. S. Departm. of Agricult. 1893.
36) Schütz: Über die Pirosomenkrankheit der Rinder. Arch. wissensch. u. prakt. Tierheilk. 1905.
37) Theiler: Fortschritte der Veterinär-Hygiene. I. Jahrg.
38) Weisser & Maassen: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, V. 11 1895.
39) Ziemann: Über Malaria etc. Jena 1898.
40) —: Über das endemische Vorkommen der seuchenhaften Hämoglobinurie der Rinder (des sog. Texasfiebers) in Deutschland. Deutsche med. Wochenschr. 1901.

Tafelerklärung.

Tafel V.

Alle Figuren sind mit Hilfe des Abbé'scheu Zeichenapparates entworfen nnd bei homog. Immers. 2 mm Kompensationsoknlar 18, Mikroskop von Zeiss, gezeichnet worden; ihre Vergrößerung beträgt also ca. 2250 : 1. Als Lichtqnelle diente Auerlicht.

Fig. 1—20. Schizogonische Fortpflanznngsreihe.

Fig. 1. Freie Jugendformen.

Fig. 2. Eine Jugendform im Begriff, in das Blntkörperchen einzudringen.

Fig. 3 n. 4. Ringformen.

Fig. 5. Rundscheibe.

Fig. 6—9. Amöboide Formen.

Fig. 10. Bandform.

Fig. 11—17. Erwachsene Formen; insbesondere zeigen Fig. 16 u. 17 eine Formveränderung, welche durch die Abstoßbewegung des Kernes vor sich gegangen ist.

Fig. 18—20. Sporulationsformen.

Fig. 21—36. Gametogonische Fortpflanznngsreihe.

Fig. 21 u. 22. Kleine Birnformen.

Fig. 23—25. Bewegliche Formen.

Fig. 27—29. Erwachsene Formen.

Fig. 30. Eine atypische Zweiteilnng, bei welcher die Protoplasmateilung vor der Blepharoplastteilnng begonnen hat.

Fig. 31 n. 32. Die znr Zweiteilnng fortschreitenden Individnen; bei letzterer teilt sich der Kern schon wieder in zwei noch vor der Beendigung der Protoplasmateilnng.

Fig. 33. Die auf einem Blutkörperchen liegenden zwei Birnformen.

Fig. 34—36. Gruppen von 4, 8, 16 jnngen Gameten.

Fig. 37. Ein Paar der unreifen Gameten auf einem Blntkörperchen; sie lassen aus ihrer Lage vermuten, daß sie in diesem Blntkörperchen nicht geteilt wurden, sondern als junge Gameten von außen in dasselbe eingedrungen sind.

Fig. 38. Doppelinfektion mit einem gametogonischen Individnnm nnd zwei schizogonischen Individnen. Oben rechts kann man noch einen Restkörper von der Schizogonie bemerken.

Fig. 39. Sogen. Doppelparasiten, bei denen schon die Beschaffenheit beider Geschlechter unterschieden werden kann.

Fig. 40. Reifer männlicher Gamet.

Fig. 41. Reifer männlicher Gamet mit langer Geißel aus einem mit Natrium citricum behandelten Präparate.

Fig. 42. Reifer weiblicher Gamet.

Fig. 43. Reifer weiblicher Gamet, Formveränderung znr Rundform.

Fig. 44. Reifer weiblicher Gamet, Rednktion.

Fig. 45. Reifer weiblicher Gamet, mit dem Eihügel (?), ans der Leber 10 Stunden nach dem Tode.

Fig. 46. Ein Paar reifer Gameten, a) weiblicher, b) männlicher mit der Geißel, ans der Leber vier Stunden nach dem Tode.

Fig. 47. Kopulationsform (?) ans dem Herzblnt von derselben Leiche.

Fig. 48. Desgl. aus dem Pankreas 10 Stunden nach dem Tode.

Fig. 49. Ookinet (?) aus den Lungen.

Fig. 50. Kontraktionsform nach dem Tode, a) junge Gameten, b) männliche Gameten, c) weibliche Gameten.

Fig. 51—58. Verschiedene Parasitenformen, welche in dem in der Eiskammer aufbewahrten Blute gefunden wurden.

Fig. 51. Dauerform nach einem Tage.

Fig. 52 u. 53. Zerfallformen von normalen Parasiten nach 2 Tagen.

Fig. 54 u. 55. Degenerationsform der Dauerform nach 7 Tagen.

Fig. 56. Degenerationsform der Dauerform nach 25 Tagen.

Fig. 57. Degenerationsform der Dauerform nach 39 Tagen.

Fig. 58. Dauerform nach 39 Tagen.

Tafel II.

Alle Figuren wurden mit homog. Immers. 2 mm, Kompensationsokular 8, Mikroskop von Zeiss, photographiert.

Fig. 1—11. Schizogonische Fortpflanzungsreihe.

Fig. 1 = Taf. V Fig. 1.

Fig. 2. Ringform.

Fig. 3. Rundscheibe.

Fig. 4—6. Amöboide Formen.

Fig. 7. Bandform.

Fig. 8 u. 9. Erwachsene Formen.

Fig. 10 = Taf. V Fig. 19.

Fig. 11 = Taf. V Fig. 20.

Fig. 12—19. Gametogonische Fortpflanzungsreihe.

Fig. 12. Kleine Birnform.

Fig. 13. Halberwachsene Form, bei welcher die Vakuole durch den Ring von der chromatischen Substanz umgeben wird.

Fig. 14 u. 15. Die zur Zweiteilung fortschreitenden Individuen.

Fig. 16—18. Gruppen von 2, 4, 8, 16 geteilten jungen Gameten.

Fig. 20 = Taf. V Fig. 40.

Fig. 21 = Taf. V Fig. 41.

Fig. 22 = Taf. V Fig. 42.

Fig. 23 = Taf. V Fig. 47.

Fig. 24 = Taf. V Fig. 47.

Fig. 25 = Taf. V Fig. 48.

Fig. 26. Dauerform aus dem in der Eiskammer aufbewahrten Blute nach 25 Tagen.

Fig. 27. Degenerationsform der Dauerform nach 25 Tagen

Fig. 28. Ein Gesichtsfeld von Piroplasmosisblut.

Fig. 29. Phagocyten.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle.

Von
Richard Goldschmidt und **Methodi Popoff.**

(Hierzu 6 Textfiguren.)

I.

Die Forschungen der letzten Jahre haben uns in der tierischen Zelle Verhältnisse kennen gelehrt, die, ohne den eigentlichen Zellbegriff zu alterieren, doch unsere Vorstellungen von den einzelnen Zellbestandteilen wesentlich abzuändern berufen sind. Den Ausgangspunkt bildet R. Hertwig's (1899) Entdeckung von außerhalb des Kernes befindlichem diffusem Chromatin, aus dem sich unter Umständen neue Kerne bilden können, eine Entdeckung, die er dann im Zusammenhang mit weiteren Befunden 1902 zur Lehre von den Chromidien aufbaute. Auf dieser Basis vermochte dann Schaudinn (1903) die Rolle solcher Chromidien im Fortpflanzungscyklus mehrerer Protozoen festzustellen und mit der Festlegung ihrer Bedeutung für die Bildung der Gametenkerne zur Unterscheidung somatischer und propagatorischer Kernteile in der Protozoenzelle zu gelangen. Dieser Gedanke wurde von Goldschmidt (1904 a) weiter ausgeführt und versucht, die bis dahin bekannten Tatsachen zu sichten und dem neuen Gesichtspunkte einzuordnen. Das gleiche tat bald darauf in enger Anlehnung an jene Ausführungen Mesnil (1905) und schließlich faßte Schaudinn (1905) seine gesamten Anschauungen, die durch seine neuen Befunde an Trypanosomen wesentliche Komplikationen erfahren

hatten, in seinem Vortrage in der Deutschen Zoologischen Gesellschaft zusammen.

Diese für die Protozoenzelle gewonnene Anschauung der prinzipiellen Doppelkernigkeit d. h. der Unterscheidung eines somatischen und propagatorischen Kernanteils, die im einheitlichen Kern vereinigt oder auch zeitweilig oder dauernd getrennt sein können, wurde von Goldschmidt (1904 b) in weitgehendem Maße auf die Metazoenzelle zu übertragen versucht. Von der Tatsache ausgehend, daß sowohl somatische (vegetative) wie propagatorische Kernsubstanzen bei den Protozoen in Form von Chromidien d. h. aus dem Kern stammenden Chromatinpartikeln im Plasma auftreten, suchte Goldschmidt die zahlreichen beschriebenen Befunde chromatischer Substanzen im Plasma lebhaft funktionierender Gewebszellen an Hand neuer Tatsachen unter dem Begriff des Chromidialapparats zusammenzufassen und als Ausdruck der vegetativen Kernanteile mit den betreffenden Zuständen der Protozoen zu vergleichen. Diese Lehre vom Chromidialapparat wird durch alle seitdem gefundenen neuen Tatsachen nach jeder Richtung hin bestätigt und bildet für uns auch hier den Ausgangspunkt für die folgenden Betrachtungen, die uns von durch Popoff erhobenen neuen Befunden an Metazoenzellen umgekehrt wieder zur Betrachtung einiger Verhältnisse der Protozoenzelle führen. Es ist ja nicht das erste Mal, daß die uns hier interessierenden Erscheinungen der Kernteilung der Protozoen von den Metazoen ausgehend klarzulegen versucht wurden, wie die Versuche beweisen, den Centrosomenbegriff auf die Protozoen zu übertragen. Umgekehrt fehlte es allerdings auch nicht an Bestrebungen, die Verhältnisse der Protozoen als Vorläufer der Metazoenzellorganisation zu bewerten, wie z. B. in dem Vergleich des Infusorienmikronukleus mit dem Centrosom zum Ausdruck kommt. (Bütschli 1891, Heidenhain 1893, 1894.) Unserer Ansicht nach haben aber diese Versuche bisher noch zu keiner Klärung geführt, vor allen Dingen deshalb, weil um eine „Phylogenie der Centrosomen“ festzustellen, ganz verschiedenartige Dinge miteinander verglichen wurden. Eine genauere Betrachtung zeigt uns, daß gerade die als Centrosomen in Anspruch genommenen Bildungen mit geringen Ausnahmen, in denen wirkliche Centrosomen vorliegen, ganz anderer Natur sind, daß sie Bildungen sind, die erst durch die neue Formulierung des Begriffs des Chromidialapparates dem Verständnis näher gebracht werden können. Es ist daher unsere Aufgabe, im folgenden zunächst die bisherigen Versuche zu besprechen, die Kernteilungserscheinungen der Protozoen einer allgemeineren Gesetzlichkeit unterzuordnen und sodann an

Hand des vorliegenden Materials den Versuch einer Klärung auf Grund der neuen Anschauungen vorzunehmen.

II.

Die bisherigen Versuche, die verschiedenen Formen der Protozoenkernteilung unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zu betrachten und die dabei auftretenden Zellbestandteile mit solchen der Metazoenzelle zu vergleichen, lassen sich in drei Gruppen sondern, nämlich 1. die Lehre vom Nukleolo-Centrosoma, 2. Vergleiche unter Zugrundelegung der Archoplasmatheorie, 3. Hertwig's Achromatin-Centrosomenlehre. Schon diese Aufzählung zeigt, daß es sich bei den bisherigen Versuchen, entsprechend den in den letzten Jahrzehnten im Vordergrund des Interesses stehenden Fragen, vorwiegend darum handelt diesen oder jenen Teil der Protozoenkernteilungsfigur mit dem Centrosom, der Sphäre, dem Archoplasma und ihren Derivaten zu vergleichen. Je nach dem verschiedenen der allgemeinen Betrachtung zugrunde liegenden Untersuchungsobjekt wie nach der Stellung zu den betreffenden Problemen der Zellforschung fiel der Vergleich verschieden aus, wie jetzt kurz dargestellt werden soll.

1. Von ihren Untersuchungen über die Teilung der *Euglena* ausgehend, in deren Kern ein mit Chromatinfarbstoffen färbbares nukleolusartiges Gebilde vorhanden ist, welches bei der Kernteilung

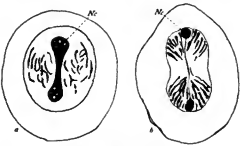


Fig. 1 (nach Keuten).
Kernteilung von Englena. Nc = Nucleolocentrosom.

eine aktive Rolle zu spielen scheint, indem es sich zuerst stäbchenförmig ausstreckt, dann in der Mitte durchschnürt und die beiden so entstandenen Teile als Anziehungscentren für das Chromatin wirken, haben Keuten (1895) und Blochmann (1894) den Begriff des Nukleolo-Centrosoma eingeführt (Fig. 1a, b). Sie suchten die Funktion jenes Gebildes bei der Kernteilung auszudrücken beim

Fehlen von echten mit denen der Metazoenzelle vergleichbaren Centrosomen soll der Nukleolus dessen Rolle übernommen haben und so funktionell der Centralspindel + Polkörperchen der Salamanderzellen (Flemming, Hermann) vergleichbar sein.

Ähnlich wie bei *Euglena* und einer von Steuer (1903) neuerdings untersuchten Englenide soll sich auch das nukleolusartige Gebilde bei *Amoeba crystalligera* verhalten (Hertwig 1898, Vahlkampf 1904) mit dem Unterschied, daß die ganze Chromatinmasse in diesem Körper kondensiert bleibt (Vahlkampf l. c.) und es damit nicht zur Ausbildung von Chromosomen kommt. Nach den Beobachtungen Schaudinn's (1894) streckt sich der erwähnte Körper bei der Kernteilung stäbchenförmig, um sich nachträglich in der Mitte durchzuschnüren.

Die späteren Untersuchnngen zeigten, daß die Nukleolo-Centrosomen ziemlich weit verbreitete Gebilde bei der Kernteilung der Protozoen sind und man war bestrebt auch andere Teilungsmodi von hier aus verständlich zu machen. Schon Keuten (l. c.) hat versucht, eine Parallele zwischen dem Nukleolo-Centrosom und der Centralspindel, wie sie Lauterborn (1896) bei den Diatomeen schildert, zu ziehen. Und in der Tat, wenn wir die Entstehungsweise dieses Gebildes aus einem außerhalb des Kerns gelegenen Centrosom (Lauterborn l. c.) außer acht lassen, weist es in seinem Verhalten innerhalb der karyokinetischen Figur Vergleichspunkte mit dem Nukleolo-Centrosom auf. Hertwig (1898) stimmte dieser Anschauungsweise bei und betrachtet das Centrosom der Diatomeen als ein aus dem Kern ausgetretenes Nukleolo-Centrosom. Diese Betrachtungsweise soll eine Stütze in den interessanten Angaben von Schaudinn über das Verhalten des Nukleolo-Centrosoms bei *Oxyrrhis marina* finden: Unter normalen Verhältnissen teilt sich das Nukleolo-Centrosom im Innern des Kerns und zeigt ein dem gleichen Gebilde bei den Flagellaten genau vergleichbares Verhalten; kultiviert man aber die Tiere in verdünntem Seewasser, so tritt das Nukleolo-Centrosom behufs Teilung in das Plasma über und „so liegt es doch auch hier am nächsten, zu sagen, daß das Nukleolo-Centrosom ein im Kern entstandenes Gebilde ist, welches aber genügende Selbständigkeit gewonnen hat, um auch außerhalb des Kerns in Protoplasma weiter zu funktionieren".

Schaudinn (1896 b) und Lauterborn (1896) selbst aber, von seinen Vorstellungen über die Natur des Centrosoms ausgehend, d. i. daß das Centrosom sich aus einem zweiten in der phylogenetischen Reihe vorhandenen Nukleus entwickelt hat (von *Amoeba binucleata*,

Paramoeba Eilhardi) sehen in der Centralspindel der Diatomeen, im Gegensatz zu HERTWIG (1898) einen zweiten Kern, welcher bei den Amöben nnd Flagellaten in den Kern hineingeraten und hier zum Nukleolo-Centrosom geworden ist. — Einem solchen Vergleich des sogenannten Nukleolo-Centrosoms mit dem Centrosom der Metazoen ist allerdings vielfach wiedersprochen worden, auch von Forschern, die von den Verhältnissen bei Protozoen ausgingen. So wäre es nach Ansicht von CALKINS (1899) richtiger, wenn KEUTEN dieses Gebilde mit der Sphäre von *Noctiluca* oder mit den Polplatten anderer Protozoen verglichen hätte.

2. Während das Nukleolo-Centrosom in seiner typischsten Ausbildung auf die einfachsten Mitosen, die zunächst sogar keine deutliche Differenzierung von Spindelfasern aufweisen, beschränkt bleibt, finden wir bei komplizierteren karyokinetischen Figuren von Protozoen andere einer Erklärung bedürftige Bildungen. Dicht am Kern anliegend entwickelt sich ein Gebilde, welches in die Teilung des Kerns eingreift und das entsprechend seiner Funktion von verschiedener Seite mit dem Nukleolo-Centrosom verglichen wird: das ist das sogenannte Archoplasma oder die Sphäre wie sie typisch ausgebildet in der Karyokinese von *Noctiluca* uns entgegentritt, und die man, wie der Name besagt, der damals beliebten Teilungssubstanz BOVERI's, dem Archoplasma, verglichen hat.

In den Vorbereitungsstadien zur Kernteilung bildet sich bei *Noctiluca*, dicht dem Kern anliegend, unter allmählicher Größenzunahme ein Gebilde aus, welches im Anfang sphärisch ist (Fig. 4 a, b, c), sich später allmählich in die Länge streckt und im Stadium der Metaphase als Centralspindel funktionieren soll. Soweit stimmen die Angaben der drei Forscher ISCHIKAWA (1891/1894), CALKINS (1899) nnd DOFLEIN (1900), denen wir die eingehende Untersuchung der Karyokiuese von *Noctiluca* verdanken, überein. Eine große und prinzipielle Verschiedenheit ist aber in der Beurteilung der Natur und Funktion dieses Gebildes gegeben.

Während für ISCHIKAWA und CALKINS die Kernteilung von den in der Sphäre zur Ausbildung kommenden echten Centrosomen, wie wir sie bei den Metazoen finden, eingeleitet und beherrscht wird, bestreitet DOFLEIN das Vorkommen von Centrosomen; für ihn spielt die ganze Sphäre die Rolle eines solchen. Seinen Angaben nach soll die Sphäre vom Protoplasma entstehen und den MORGAN'schen Astrosphären in kernlosen Stücken von Seeigeleiern vergleichbar sein. Auch ISCHIKAWA hält es für sehr wahrscheinlich, daß die Sphäre eine Differenzierung des Plasmas darstelle und den Archoplasma-

schleifen Hermann's vergleichbar ist. — Calkins dagegen, von allgemeinen Betrachtungen über den Protozoenkern ausgehend, sucht es wahrscheinlich zu machen, daß die Sphäre von Noctiluca der Attraktionssphäre (wie er das Nukleolo-Centrosom der Flagellaten nennt) — des Flagellatenkerns entspricht, nur daß sie hier extranuklear geworden ist. In seiner Schrift über die Protozoennuklei sagt er, daß die „nuclear differentiation in Protozoa is closely connected with an attraction-sphere or active agent in division. In nuclei of the distributed (*Tetramitus*-) type this is an indefinite faintly staining cytoplasmic mass in the vicinity of which the scattered chromatin granules collect previous to division and about which they are grouped during division. In nuclei of the „intermediate“ type the attraction-sphere is intra-nuclear, definite in Form, deeply staining and active, and chromatin granules are massed about it either permanently (*Synura*, *Chilomonas*, *Euglenoides* etc.) or only during division (*Paramoeba*), and with or without a nuclear membrane. In higher types of nuclei the attraction-sphere is no longer intra-nuclear, but this position of vantage is taken by the centralspindle during division (*Noctiluca* and many Metazoa)“ (p. 396 — (1898). Abgesehen von

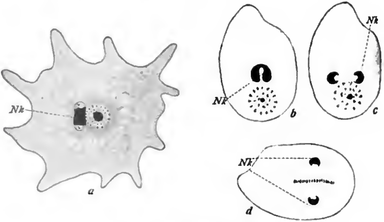


Fig. 2 (nach Schaudinn).
Kernteilung von Paramoeba eilhardi. *Nk* = Nebenkörper.

diesen weitauseinander gehenden Auffassungen, stimmen Ischikawa und Calkins darin überein, daß sie die Sphäre als eine von den Centrosomen unabhängige Bildung betrachten.

Hier müssen wir auch die Beobachtungen Schaudinn's (1896a)

an *Paramoeba eilhardi* erwähnen,' bei welchem Rhizopod neben dem Kern ein dauernd persistierendes Gebilde zu finden ist: — der „Nebenkörper“ (Fig. 2a, b, c). In seinem Verhalten bei der Kernteilung soll dieses Gebilde vergleichbare Momente mit dem der Sphäre von *Noctiluca* aufweisen. Darum sieht SCHAUDINN in ihm eine Vorstufe in der Ausbildung der Sphäre von Noctiluca und des Centrosoms + Centralspindel der Diatomee Surrirella, von welch letzteren die Centrosomen + Centralspindel der Metazoenkaryokinese stammen sollen. Alle diese Gebilde sollen ihrerseits als Differenzierung eines zweiten Kerns, wie wir ihn bei *Amoeba binucleata* finden, aufgefaßt werden, eine Betrachtungsweise, welche schon von BÜTSCHLI (1891) und HERTWIG (1892) ausgesprochen, von SCHAUDINN (1896b) adoptiert, und am eingehendsten von LAUTERBORN (1896) in seiner Diatomeen-Arbeit durchgeführt wurde.

3. Die am konsequentesten durchgeführten Ideen über die Karyokinese der Protozoen in Anknüpfung an die Centrosomenfrage verdanken wir R. HERTWIG. Schon 1885 hat HERTWIG die Ansicht vertreten, daß das Centrosom eine Differenzierung der achromatischen Kernsubstanz darstellt. Von hier ausgehend versuchte er eine einheitliche Auffassung der Centrosomen bei den Metazoen durchzuführen und von dort aus auch die verschiedenartigsten Mitosen der Protozoen verständlich zu machen. Am eingehendsten wurden seine Betrachtungen über die Protozoenkaryokinesen im Anschluß an die Untersuchungen über *Actinosphaerium* (1898) durchgeführt. Bei der Richtungskaryokinese dieses Heliozoons kommt es an einem Pol des heteropol entwickelten Kerns zum Austritt von einer mit Borax-Karmin sich stark färbenden Substanz, welche allmählich an Masse zunimmt und das „spongiöse Centrosom“ HERTWIG's darstellt (Fig. 3a, b, c, d). In diesem Ausbildungsprozeß sieht HERTWIG eine Bestätigung seiner auch bei den Metazoen in exzessiven Fällen (Befunde SALA's am *Ascaris*-Ei) nachweisbaren Annahme des Kernursprungs des Centrosoms. Von den Betrachtungen an *Actinosphaerium* ausgehend und auf der großen Ähnlichkeit dieser Bilder mit jenen von *Noctiluca* fußend, nimmt er an, (gegen DOFLEIN) daß auch jene „Sphäre“ wahrscheinlich nukleären Ursprungs ist. — Ferner „sehr wahrscheinlich ist der nukleäre Ursprung des als Centrosoma funktionierenden Centralkorns für *Acanthocystis* durch SCHAUDINN's Untersuchungen geworden. Beziehungen zum Kern ergeben sich für eine Anzahl von extranukleären Gebilden, die zum mindesten den Centrosomen sehr ähnlich sind: ich verweise hier auf die Untersuchungen SCHAUDINN's über *Paramoeba eilhardi* und *Oxyrrhis*

marina. Schließlich kennen wir von Flagellaten (Keuten und Lauterborn) und Rhizopoden (Schaudinn) intrannkleäre Körper (Nukleolo-Centrosomen), welche den Teilungsvorgang einleiten nnd in dieser Hinsicht an Centrosomen erinnern" (p. 22, 1902).

Über die Entwicklung und Vervollkommnung des Centrosoms stellt Hertwig, auf das vorliegende Beobachtungsmaterial gestützt, verschiedene Möglichkeiten auf: „Einmal kann als Ausgangspunkt eine zweikernige Zelle angesehen werden (*Am. binucleata*): — das ist die Hypothese von der Kerngleichwertigkelt des Centrosoms, die wir schon besprochen haben" (siehe Schaudinn-Lauterborn) — „Bei der übrigen Entwicklungsweise der Centrosomen würde ein gemeinsamer Grundzug darin gegeben sein, daß die Centrosomen Produkte desselben Kerns sind, dessen Teilung sie veranlassen" (p. 71, 1898). Dementsprechend erklärt Hertwig auch den achromatischen Teil der Infusorienspindel für das Homologon des — hier noch intranukleären — Centrosoms.

Der Ansicht Hertwig's, daß das Centrosom sich ans dem achromatischen Teil des Kerns individualisiert, schloß sich auch Boveri in seiner Arbeit über die Natur der Centrosomen an und versuchte, Klarheit über einige Protozoenkaryokinesen zu erlangen. Ohne im Detail auf seine theoretischen Ausführungen einzugehen, möchten wir nur erwähnen, daß nach Boveri (1900) der „Nebenkörper" von *Paramoeba eilhardi* und die „Sphäre" von *Noctiluca* der Centralspindel + Centrosoma von *Diaulula* entsprechen würde, — die echten Centrosomen aber, welche Ischikawa und Calkins in der Sphäre von *Noctiluca* beschrieben haben, sollen den Centriolen gleichzusetzen sein.

III.

Dies sind in Kürze die wichtigsten Deutungen der Protozoenkaryokinese. Die Hauptobjekte, auf die sie sich beziehen, sind die Sphäre von *Noctiluca*, das spongiöse Centrosom von *Actinosphaerium*, die Centralspindel bei den Diatomeen, der Nebenkörper bei *Paramoeba eilhardi* nnd das Nukleolo-Centrosom der Flagellaten, nur gelegentlich werden anch die Polkörper, Polplatten und ähnliche Gebilde wie bei *Euglypha*, den Infusorien und Gregarinen mit in die Betrachtungen einbezogen. Wir haben gesehen, wie verschiedentlich von den verschiedenen Autoren alle diese Gebilde aufgefaßt worden sind. Gemeinsam ist nur das Bestreben, einen Vergleich mit Centrosom, Sphäre nnd Centralspindel der Metazoenzelle zu ziehen, die betreffenden Bildungen in einer oder der anderen Weise zu homo-

logisieren und so für oder gegen die verschiedenen Auffassungen der Centrosomenlehre Partei zu ergreifen. Für unsere folgenden Betrachtungen hat der letztere Punkt nur geringes Interesse, es handelt sich vielmehr darum, die Frage zu prüfen, ob die unter dem Gesichtspunkt der Centrosomenhomologie bisher betrachteten Bildungen der Protozoenkaryokinese nicht in eine ganz andere Kategorie von Zellbestandteilen zu verweisen sind. Wir wollen dabei auf dem gleichen Wege vorgehen, den unsere Überlegungen genommen haben, nämlich von der Ähnlichkeit ausgehen, die zwischen gewissen Bildungen der Metazoenzelle, speziell Ei- und Samenzellen und der Bildung des „spongiösen Centrosoms" von *Actinosphaerium* besteht, um dann auch die entsprechenden Vorgänge bei anderen Protozoen der gleichen Betrachtungsweise einzuordnen und schließlich die so gewonnenen Ergebnisse unseren allgemeinen Anschauungen einzufügen. Die betreffenden Tatsachen sind kurz von Goldschmidt (1905) für *Zoogonus* und besonders eingehend von Popoff (1906) für *Paludina* und *Helix* beschrieben und abgebildet worden.

Schon in den ersten Entwicklungsstadien der Ovocyten von *Paludina*, noch im Stadium des leptotenen Kerns (dünner Knänel) ist zu bemerken, daß dicht der Kernmembran angeschmiegt chromatische Gebilde entstehen. Die intensive Ausbildung derselben beginnt aber erst während und nach dem Stadium, in welchem die Chromatinschleifen im Kern eine heteropole Anordnung angenommen haben (Bouquettstadium — oder Stadium des pachytenen Kerns) (Fig. 4, a—d). An der Stelle der Kernmembran, an der die Chromatinschleifen sich ihr anlegen, sieht man eine dichte Ansammlung chromatisch gefärbter Körner und Stäbchen. Die Anschmiegung an die Membran ist eine so dichte, daß sie in den Berührungspunkten undeutlich und aufgelöst erscheint. Ihre höchste Ausbildung erlangen diese Gebilde erst in der zweiten Phase der Entwicklung, der Wachstumsphase. In dieser Phase tritt die interessante Erscheinung auf, daß die chromatisch färbbaren Körner und Stäbchen von der Kernmembran sich zu entfernen beginnen, um sich in dem Plasma zu verstreuen, wo sie allmählich verbraucht und aufgelöst werden; — noch bleibt aber der Zusammenhang mit dem Kern kenntlich durch eine vermittelnde Verbindungsbrücke. Während dieses Prozesses ist eine Neuentstehung von chromatisch sich färbenden Körnern und Stäbchen dicht an dem Kern nicht ausgeschlossen, ja dies ist sogar das normale Verhalten.

Das erste Auftreten dieser Gebilde, der enge Zusammenhang mit dem Kern, die Chromaticität sprechen dafür, wie von Popoff

(l. c.) näher ausgeführt wurde, daß sie vom Kern aus entstehen und ausgestoßenes Chromatin darstellen, Chromidien, wie es für die bisher bekannten homologen Fälle (Dotterkern usw.) zuerst von Goldschmidt postuliert wurde, und wie es aus so ziemlich allen seitdem erschienenen ovogenetischen Arbeiten hervorgeht, wenn auch die Schlußfolgerungen der Autoren nicht immer mit ihren Beobachtungen im Einklang stehen. Ähnlich verhalten sich die Chromidien auch bei den männlichen Geschlechtszellen von *Paludina*, welche Meves (1900) eingehend unter dem Begriff von Benda's Mitochondria beschrieben hat, ohne aber über deren Ursprung sich zu äußern. Ganz übereinstimmend verhalten sich ferner die Ovocyten und Spermatocyten bei *Helix pomatia* (Fig. 4). (Näheres s. Popoff l. c.)[1])

Vergleichen wir nun einmal mit dieser Chromidienbildung der Metazoenzellen, die Schilderung, die Hertwig (1898) in seiner bekannten *Actinosphaerium*-Arbeit von der Bildung des „spongiösen Centrosoms" bei diesem Heliozoon gibt.

In den Vorstadien der Reifung nehmen die Chromatinschleifen im Kern von *Actinosphaerium* heteropole Anordnung an. An ihrer Berührungsstelle mit der Kernmembran schnürt sich von ihnen ein von Stäbchen und Körnern zusammengesetztes chromatisches Gebilde ab, welches Hertwig als Centrosom betrachtet. Der außergewöhnlichen Größe und des lockeren Baues wegen nennt er es „spongiöses Centrosom". Nachdem das spongiöse Centrosom eine beträchtliche Größe erreicht hat, rückt es vom Kern ab, um nachher nochmals zu ihm zurückzukommen und durch Resorption eine allmähliche Größenabnahme zu erfahren. Von dem großen Centrosom bleiben dann nur noch einige kleine Körnchen zurück, die Hertwig als Centriolen deutet und die in der Anaphase durch Größenzunahme die Centrosomen der Spindelpole liefern. Danach gestaltet sich nach Hertwig der Entwicklungsgang des Centrosoms folgendermaßen: Das aus dem Kern „neu entstandene Centrosom bildet einen spongiösen Körper, welcher Ausgangspunkt einer intensiven Strahlung ist. Unter Zunahme seiner Größe und der Strahlung rückt es vom Kern ab, kehrt dann wieder zu ihm zurück und beginnt der Kernoberfläche dicht angeschmiegt eine Umgestaltung. Durch lokale Verdichtungen entstehen im Retikulum kleine Körper, Centriolen (Boveri), welche allein erhalten bleiben, während der Rest des Gerüsts aufgelöst

[1]) Auf die allgemeine Bedeutung dieser Erscheinung und ihre weite Verbreitung in tierischen und wahrscheinlich auch pflanzlichen Zellen brauchen wir hier nicht näher einzugehen. Sie stellen die Grundlage der Lehre vom Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen dar.

wird“ (p. 75 l. c.). „Die Tochtercentrosomen, die umgewandelten Centriolen des anfänglichen Centrosoms, wachsen im Lauf der Karyokinese von neuem heran und werden durch Lockerung zu spongiösen Körpern, von denen der eine, welcher zum Richtungskörper gehört, zugrunde geht, der andere sich weiter entwickelt“ (p. 76 l. c.). Das aus dem Kern entstandene spongiöse Centrosom färbt sich genau wie das Chromatin. „Ich habe es nicht nur mit der Eisenhämatoxylinmethode, sondern sogar an Chrom-Osmiumpräparaten mit Boraxkarminfärbung nachweisen können. Es färbt sich, als ob es aus chromatischer Masse bestünde. Diese Färbbarkeit mit Karmin hatte etwas Überraschendes für mich. Sie verliert aber an Merkwürdigkeit, wenn man bedenkt, daß es der chromatinhaltige Teil des Kernnetzes ist, welches das Centrosoma liefert“ (p. 32 l. c.). Das „spongiöse Centrosom“ von *Actinosphaerium*, so wie es uns R. Hertwig schildert, weist eine große Ähnlichkeit mit einer Bildung der Metazoenzellen „die eine sehr wechselnde Beurteilung und demgemäß auch Benennung erfahren hat, die in Spermatiden und Spermagonien bald Nebenkern, bald Archoplasmakugel, bald Centrodeutoplasma, bald Idiozom, bald Attraktionssphäre genannt worden ist. Die Gebilde finden sich auch in anderen Zellen, es sind die „Sphären“ der Ganglienzellen und Epithelzellen. Nach meiner Ansicht handelt es sich um riesige Centrosomen oder Centrosphären“ (p. 79).

Nach dieser Darstellung erscheint uns die Identität des spongiösen Centrosoms von *Actinosphaerium* mit den Chromidien bei *Paludina* und *Helix* unverkennbar (Fig. 3 u. 4). Dafür spricht: 1. die Entstehungsweise beider Gebilde: beide entstehen aus dem Chromatin des Kerns und zwar an dem Kernpol des heteropol ausgestalteten Kerns, zu dem die Chromatinschleifen konvergieren; 2. das Färbungsvermögen: beide färben sich chromatisch; 3. ihre Struktur: beide zeigen genau dieselbe Zusammensetzung ans Stäbchen und Körnern; 4. das Schicksal: beide lösen sich nachträglich im Plasma auf.

Allerdings ist nicht zu vergessen, daß schließlich aus dem spongiösen Centrosom Körnchen hervorgehen, die das Zentrum einer Strahlung bilden und dadurch echten Centrosomen vergleichbar erscheinen. Wir wollen sie, wie überhaupt die Frage, ob sich zwischen diesem Chromidialapparat und den Centrosomen Beziehungen statuieren lassen, zunächst beiseite lassen (nur im Hinblick auf das Folgende sei die vollständige Unabhängigkeit der beiden Bildungen schon hervorgehoben) und nunmehr zusehen, wieweit wir auch bei

anderen Protozoen dem Chromidialapparat der Geschlechtszellen und des *Actinosphaerium* Homologes nachweisen können.

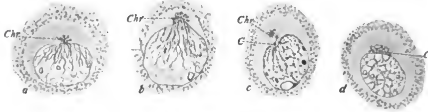


Fig. 3 (nach R. Hertwig).
Bildung des „spongiösen Centrosoms“ von Actinosphaerium.
Chr = spong. Centrosom. *C* = definitive Centrosomen.

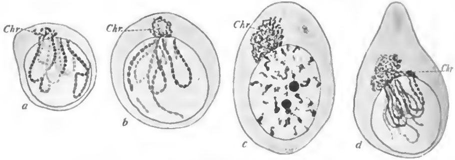


Fig. 4 (nach Popoff).
a, b, c = 3 Stadien der Chromidienbildung in den Ovocyten von Paludina vivipara.
d = desgl. in den Spermatocyten von Helix pomatia. *Chr* = Chromidien.

Den Zuständen des *Actinosphaerium* lassen sich die von *Noctiluca* direkt zur Seite setzen (Fig. 5). Die Ähnlichkeit ist so groß, daß sie schon von verschiedener Seite (Bütschli (1889), Hertwig (1898—1902), Doflein (1900) hervorgehoben worden ist. Wie beim *Actinosphaerium* bildet sich auch bei *Noctiluca* während der heteropolen Beschaffenheit des Kerns, dicht an der Kernmembran anliegend ein von Stäbchen und Körnern zusammengesetztes, stark färbbares Gebilde, welches genau das Aussehen und die Färbungseigenschaften der Chromidialgebilde beim *Actinosphaerium* (das spongiöse Centrosom) und den Metazoen aufweist. Schon in den Schriften von Ischikawa und Doflein ist die Vermutung ausgesprochen, daß bei der Bildung dieses Gebildes auch der Kern einen Anteil haben muß. So schreibt Doflein l. c. auf p. 12: „Bald darauf (in den Vorstadien zur Teilung) erfährt der Kern eine Änderung seiner Form, er diffe-

renziert sich unipolar; **unzweifelhaft ist dies ein Ausdruck von Wechselbeziehungen zwischen Kern und Protoplasma, die Bilder, welche dann entstehen, ähneln außerordentlich den Anfangsstadien der Kernteilung von *Actinosphaerium*, den Stadien, in welchen R. Hertwig die Bildung des Centrosoms beschreibt.**“ [1]) An einer anderen Stelle, bei Besprechung der polaren Anordnung der Chromatinschleifen im Kern und deren möglicher Beziehung zum Plasma, äußert sich Doflein wie folgt: „Somit wird unter den Substanzen,

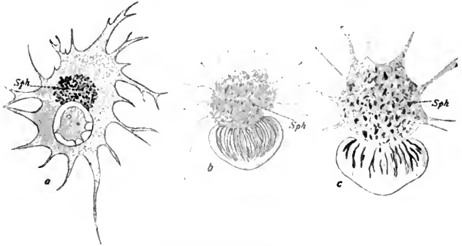


Fig. 5 (nach Ischikawa).
Bildung der „Sphäre“ von Noctiluca. *Sph* = Sphäre.

welche am aktiven Pol des Kerns ausgeschieden werden, sich auch Chromatin oder ein Derivat von solchem finden. Dies wird auch dadurch bewiesen, daß die dem aktiven Kernpol anliegende Protoplasmaregion in dieser Periode, sowie in den daran folgenden in auffallender Weise färbbar ist“ (p. 13 l. c.). Diese Region ist die „Sphäre.“ „**Der Übertritt von Chromatin aus dem Kern macht sie auch in konserviertem Zustand so stark färbbar, daß sie — intensiver gefärbt als der Kern — bei oberflächlicher Betrachtung mit schwacher Vergrößerung regelmäßig für den Kern gehalten wird.**“ [1])

[1]) Von uns gesperrt.

Die Identität der „Sphäre“ (Calkins-Doflein) = dem Archoplasma Ischikawa's mit dem spongiösen Centrosom beim *Actinosphaerium* tritt auch in den hier wiedergegebenen, aus der Arbeit Ischikawa's stammenden Abbildnngen, ohne weiteres hervor.

Trotz diesen unzweideutigen Hinweisen auf den Kernursprung dieses Gebildes, welche in den Schriften der drei angeführten Autoren sich finden lassen, sind diese geneigt, in demselben eine plasmatische Differenzierung zu erblicken, was durchaus begreiflich ist, wenn wir den Stand nnserer damaligen Kenntnisse über diesen Teil der Zellmorphologie nnd -physiologie berücksichtigen.

Das aber, was den Vergleich zwischen *Actinosphaerium* nnd *Noctiluca* noch mehr bestärkt, ist das Vorkommen von echten Centrosomen. Die Unabhängigkeit von Centrosom und Sphäre bei *Noctiluca* wurde schon von den beiden ersten Untersuchern dieses Objekts — Ischikawa und Calkins — richtig erkannt. Doflein hat aber dagegen Einwände erhoben nnd versucht die von Ischikawa und Calkins beobachteten Gebilde als Artefakte zu deuten, unserer Meinung nach allerdings mit Unrecht. Einen Beweis für seine Annahme findet Doflein darin, daß „sie (die Centrosomen von Ischikawa) häufig nicht in der Gegend liegen, nach welcher die Sphäre centriert ist“. Das beweist natürlich nur die von nns später noch näher zu besprechende Unabhängigkeit der beiden Gebilde, Centrosom und Sphäre, und, daß die Sphäre — eben keine Sphäre ist.

Ein Unterschied zwischen dem Verhalten der Chromidien von *Noctiluca* und denen von *Actinosphaerium* ist nur darin gegeben, daß sie bei *Noctiluca* eine größere Selbständigkeit bei der Teilnng erreicht haben, was dadurch znm Ausdruck kommt, daß die Sphäre (das Chromidialgebilde) sich früher der Länge nach auszieht nnd teilt, als der Kern, — was ja den Anlaß zum Vergleich mit der Centralspindel gab. Es hat dies aber weiter nichts so Merkwürdiges an sich, da wir das gleiche Verhalten oft bei den homologen Gebilden in der Spermiogenese der Metazoen, den Chromidien, beobachten können; so z. B. in den Spermien von Palndina. Wir halten uns also für berechtigt, die sogenannte Sphäre von *Noctiluca* mit Ausnahme der ihr eingelagerten Centrosomen für das Homologon des spongiösen Centrosoms des *Actinosphaerium* d. h. für eine Erscheinungsform des Chromidialapparats zu erklären.

In den beiden bisher betrachteten Fällen trat eine Sonderung des Chromidialapparats aus dem Kern im Beginn einer Teilnng ein und zeigte ihn uns schließlich als ein vom Kern völlig getrenntes selbständiges Gebilde. Von diesem Mittelfall ausgehend können wir

einmal uns vorstellen, daß die Sonderung auch während der Kernruhe besteht, und andererseits, daß die Sonderung nur innerhalb des Kerns in Erscheinung tritt. (Die Frage, warum dies der Fall ist, wollen wir uns hier noch nicht vorlegen.) Gerade dieser letztere Fall scheint uns bei dem Vorhandensein des sog. Nukleolo-Centrosoms vorzuliegen. Diesen Fall wollen wir zuerst an dem als Paradigma für das Nukleolo-Centrosom dienenden Objekt betrachten, der *Euglena viridis*. Wie schon im II. Abschnitt erwähnt wurde, existiert im Kern von *Euglena* ein nukleolusartiges chromatisch färbbares Gebilde (das Nukleolo-Centrosoma Keuten's und Bochmann's), welches bei der Kernteilung sich der Länge nach ausstreckt und als Spindel funktioniert, indem die Chromosomen sich um es herum gruppieren und dann nach seinen Polen auseinanderrücken (Fig. 1); die beiden Hälften des in der Mitte durchgeschnürten Nukleolo-Centrosoms werden in die Tochterkerne einbezogen, wo sie wieder als Nukleolus imponieren. Wenn der Chromatingehalt dieses Gebildes ein Umstand ist, es mit den vorher beschriebenen zu vergleichen und somit ihm eine centrosomale Natur abzusprechen, so tritt die Ähnlichkeit mit den Chromidialgebilden der anderen Protozoen besonders deutlich hervor in seinem Verhalten in der Teilungsfigur: Im Stadium des stäbchenförmig ausgezogenen Nukleolus erinnert das Bild an das Verhalten der Sphäre bei der Teilung von *Noctiluca*, bei welcher auch die ausgezogene Sphäre dieselbe centrale Lage einnimmt. Auf diese Ähnlichkeit hat schon Calkins (1899) hingewiesen. Im Stadium der Tochterplatten dagegen ist das Bild mit der Teilungsfigur des später zu besprechenden Flagellatenstadiums von *Paramoeba eilhardi* zu vergleichen. Die beiden Hälften des durchgeschnürten Nebenkörpers nehmen genau dieselbe Lage ein und zeigen dieselbe Tinktionsfähigkeit wie die beiden Hälften des Nukleolo-Centrosoms bei *Euglena*.

Zwischen diesem dauernd im Kern erhaltenen Chromidialapparat in Form des Nukleolo-Centrosoms und dem vorher besprochenen Typus des *Actinosphaerium* und der *Noctiluca* vermitteln die Verhältnisse von *Amoeba limax*, bei der einmal die homologe Bildung nur während der Teilung in Erscheinung tritt, wie bei letzteren Objekten, sodann aber innerhalb des Kerns verbleibt wie in ersterem Fall. Auch hier kann von einer centrosomalen Natur der Polkörper nicht die Rede sein. Bei der Teilung des Kerns dieser Amöbe kommt es, wenn auch erst nachträglich zu einer Ausbildung von Chromosomen (I. Teilungstypus Vahlkampf's) oder zur Absonderung

einer undifferenzierten chromatischen Masse (II. Teilungstypus Vahlkampf's), welche beide von dem Chromatin der Polkörper ihren Ursprung nehmen (Fig. 6,a,b). Ähnliche Vorgänge, wie sie sich bei *Amoeba limax* abspielen, sollen nach der Aussage Vahlkampf's auch bei der Teilung von *Basidiobolus lacertae* (Untersuchungen Löwenthal's) sich vorfinden.[1])

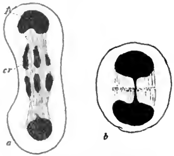


Fig. 6 (nach Vahlkampf).
Karyokinese von Amoeba limax. *Ch* = Chromosomen. *p* = Polkörper.

Der extremste Fall, der der dauernden Sonderung der Chromidialsubstanz vom Kern, scheint — wenn wir von den schon an anderem Ort betrachteten Fällen der Infusorien, beschalten Rhizopoden usw. (s. Goldschmidt, 1904a) absehen — bei *Paramoeba eilhardi* vorzuliegen, von deren Verhältnissen uns Schaudinn (1896a) folgende Schilderung entwirft: In dem Amöbenzustand von *Paramoeba eilhardi* ist dicht dem Kern angeschmiegt dauernd ein Körper zu finden, der „Nebenkörper", welcher normalerweise eine große mittlere grob granulierte Partie aufweist, die sich mit Eisenhämatoxylin tief schwarz färbt; an den beiden Polen derselben sitzen zwei kleinere, meistens homogen aussehende und nicht so tief färbbare Partien. Vor der Encystierung verschwindet diese Differenz zwischen den drei Partien und der ganze Körper zeigt mit Eisenhämatoxylin eine tiefschwarze Färbung. Der Nebenkörper eilt der Teilung des Kerns etwas voraus.

Im Flagellatenzustand ist das Verhalten des Nebenkörpers fast das gleiche: er stimmt auch hier in seinem färberischen Vermögen

[1]) Die öfters mit der Teilung des Nukleolo-Centrosoms in Beziehung gebrachte Teilung des Kerns von *Amoeba crystalligera* ist wohl nur als eine einfache amitotische Teilung aufzufassen, bei der der Binnenkörper des Kerns, der das ganze Chromatin enthält, sich selbständig teilt.

mit dem Chromatin des Kerns überein (p. 40, l. c.), teilt sich etwas vor dem Kern und in der ausgebildeten Äquatorialplatte sitzen seine beiden Hälften den Polen der Spindel auf (Fig. 2). Die Lage des Nebenkörpers in bezug auf den Kern, sein färberisches Vermögen und der Vergleich mit anderen Objekten berechtigen uns zu der Annahme, daß dieses Gebilde in einer Beziehung zum Kernchromatin stehen muß, folglich muß es der Sphäre von *Noctiluca* und dem spongiösen Centrosom von *Actinosphaerium* gleichzustellen sein.

Es erscheint ja auch von vornherein unwahrscheinlich, daß der Nebenkörper von *Paramoeba eilhardi* einem Centrosom zu vergleichen ist. Das Vorkommen von echten Centrosomen scheint bei diesem Rhizopod ausgeschlossen zu sein.

Wir müssen zum Schluß dieses Abschnittes noch einmal auf das Verhältnis von Chromidialsubstanz und Centrosom zurückkommen, da ja die von uns als Chromidialapparat gedeuteten Teile bisher direkt oder indirekt mit solchen verglichen wurden, und wie die Schilderung von *Actinosphaerium* und *Noctiluca* zeigt, dazu auch manche Anhaltspunkte bestehen. Was zunächst *Actinosphaerium* betrifft, so haben wir gesehen, daß nach Hertwig sich im Inneren des „spongiösen Centrosoms", das sich auflöst, ein kleines Korn bildet, das zum Centrum der Strahlung wird. Wir glauben, daß dies in der Tat echte Centrosomen sind, halten sie aber für völlig unabhängig von dem „spongiösen Centrosom", d. h. dem Chromidialgebilde. Bei der großen Anhäufung dieser und deren starken Färbbarkeit ist der Moment der Entstehung der echten Centrosomen leicht zu übersehen gewesen; sie treten deutlich erst auf, wenn ein Teil der Chromidien schon aufgelöst ist. Das gleiche dürfte auch für *Noctiluca* gelten, soweit es sich nach den vorliegenden Angaben beurteilen läßt. (Doflein (l. c.) bestreitet ja allerdings das Vorhandensein von Centrosomen.)

Diese Auffassungsweise, d. i. daß das Chromidialgebilde unabhängig von den Centrosomen ist, stimmt auch mit den Befunden an Metazoenzellen überein.

In der Ovogenese von *Paludina* und *Helix* vollzieht sich die erste Entstehung der Chromidien in einer Zeit, in der von den Centrosomen nichts zu bemerken ist. Genau solche Verhältnisse haben wir auch in der Ovogenese der Säugetiere (Winiwarter 1901) usw., bei welchen auch das Ei eine lange Wachstumsperiode durchzumachen hat. Freilich könnte man auch hier einwenden, daß die Centrosomen in allen diesen Fällen einfach übersehen worden seien. Trotzdem diese Möglichkeit vorhanden ist, hat sie doch nur

22*

sehr wenig Wahrscheinlichkeit für sich. Alle bis jetzt vorliegenden Fälle von frühzeitigem Nachweis von Centrosomen bei den Ovocyten sind sehr unsicher. Es liegt ja auch kein Grund vor, daß ein centrosomatisches Gebilde dauernd in der Zelle vorhanden ist, während der oft viele Jahre dauernden Wachstumsperiode, wie sie z. B. die Eier der Säugetiere durchmachen. Mit Bestimmtheit treten Centrosomen vielmehr erst während der karyokinetischen Teilung auf.

Ausschlaggebender aber für unsere Behauptung sind jene Fälle, in denen die Centrosomen noch außer dem Chromidialgebilde vorhanden sind. Solch einen Fall hat Popoff (1906) von den Spermatocyten von *Paludina* beschieben. In jener Zelle befinden sich die Centrosomen gerade am entgegengesetzten Pol des Kerns, an welchem die Chromidien angehäuft sind. Ferner, in den Spermatocyten von *Forficula* liegen die Centrosomen nicht in dem Chromidialgebilde selbst, sondern in der Nähe desselben. (Zweiger 1906). Solche Fälle sind auch von Meves usw. beschrieben worden.

Die Unabhängigkeit vom Chromidialgebilde und Centrosom tritt nicht nur bei der Spermio- und Ovogenese, sondern auch in anderen Zellarten deutlich hervor. An der Homologisierung der Centrophormien gewisser Epithelzellen und des Apparates reticolare der Ganglienzellen mit einer Sphäre hält ja wohl niemand mehr fest, zumal überdies die völlige Unabhängigkeit der Centrosomen von jenen Bildungen sich nachweisen läßt (s. besonders Sjövall 1903). Nach der Lehre vom Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebzellen sind aber auch diese Bildungen jenem Begriffe einzuordnen, also auch dem spongiösen Centrosom des *Actinosphaerium* vergleichbar. In Samenzellen scheint allerdings vorübergehend eine Beziehung beider Bildungen zu bestehen, wie die Anordnung der sog. Archoplasmaschleifen (= Chromidialfäden) beweist, ferner auch das Idiozom, das wohl in manchen Fällen dem Chromidialapparat zuzurechnen ist. Es scheint, daß in diesen und ähnlichen Fällen die Beziehungen zwischen Chromidialgebilde und Centrosom mehr topographischer Natur sind, bedingt vielleicht durch den Umstand, daß Centrosomen und Chromidien in dem Teil der Zelle zur Ausbildung kommen, in dem sich die größte Plasmamenge findet.

Die Untersuchungen der Protozoenkernteilung gingen ja vielfach von dem Bestreben aus, die Ubiquität der Centrosomen nachzuweisen. Man ist jetzt in der Centrosomenfrage wieder gemäßigter geworden und scheut sich nicht mehr auszusprechen, daß karyokinetische Teilungen auch ohne Centrosomen erfolgen können. Es mag ja auch vielfach bei den Protozoen echte Centrosomen geben, wie z. B. bei

den Gregarinen. Jedenfalls aber ist von dieser Seite her kein Einwurf gegen unsere Vorstellungen zu machen. Auch HERTWIG's Anffassung von der Homologie des Centrosoms mit dem achromatischen Teil der Infusorienspindel ist hiervon unabhängig. Schließlich bleiben Bildungen wie die Polkörper in Infusorienspindeln und bei *Euglypha* (SCHEWIAKOFF 1888) vorderhand noch unerklärt.

IV.

Wir haben nns bisher bemüht nachzuweisen, daß verschiedene Erscheinnngen der Kernteilung der Protozoen richtiger als bisher unter dem Gesichtspunkt der Lehre vom Chromidialapparat verstanden werden können, welche in erster Linie nur besagt, daß in gewissen Zuständen der Zelle chromatische Teilchen aus dem Kern eliminiert werden und sich dann in charakteristischer Anordnung und Gestalt im Plasma (als Chromidien, Chromidialnetz, Chromidialfäden) finden. Die große Verbreitung dieser Erscheinung bei Metazoen und Protozoen führt dazu, in ihr den Ausdruck einer größeren Gesetzmäßigkeit zu sehen. Welcher Art diese ist, daranf weist vor allem die Tatsache hin, daß die Chromidienbildung immer nur bei besonderer Fnnktionstätigkeit der Zellen einsetzt, daß sie enge Beziehnngen zur Intensität der Funktion, besonders wohl trophische Beziehungen aufweist. Es wurde daraus die Vorstellung abgeleitet, daß die Chromidien trophisches, funktionelles Chromatin darstellen, das sich in einem gewissen Gegensatz zu dem während der Kernteilnng in den Chromosomen individualisierten propagatorischen Chromatin (Trophochromatin und Idiochromatin) befindet. Durch diese Vorstellung werden vor allem die Verhältnisse der Metazoenzelle unter einem einfachen und einheitlichen Gesichtspunkt betrachtet, was unserer Ansicht nach der Sache förderlicher ist, als wenn, wie es die Histiologen vorziehen, jedes Körnchen, das sich mit irgend einer Farbe schön färben läßt, als besonderer Begriff mit gesondertem Namen streng von jedem anderen Körnchen getrennt wird, ein Verfahren, welches zwar sehr vorsichtig ist, das Verständnis der Zelle aber in keiner Richtung fördert. Die Lehre vom Chromidialapparat hängt aber anf das engste mit einer weiteren Vorstellung zusammen, die erst geeignet erscheint, die Gesamtheit der Erscheinnngen einheitlich zn betrachten, das ist die Lehre von der Duplizität des Zellkerns. Wie kommt es, daß sich so oft in den Metazoenzellen die nrsprünglich vereinigten Kernbestandteile so vollständig trennen, daß wir von zwei Kernen reden können? Wie kommt es, daß bei vielen Protozoen die beiden Kernarten, der somatische und

propagatorische zeitlebens oder nnr vor der Fortpflanzung getrennt sind? Es ist dies nur verständlich unter der bereits in der Einleitung besprochenen Annahme, daß die tierische Zelle prinzipiell doppelkernig ist, daß der somatische und propagatorische Kernanteil auch im scheinbar einheitlichen Kern vorhanden ist und im gegebenen Moment in Erscheinung tritt. Es brauchen hier die Beweise, die in nenerer Zeit für die Auffassnng gebracht wurden, nicht wiederholt zu werden, da sie schon früher von einem von uns (Goldschmidt 1904 a, b) zusammengestellt wurden. Es ist seitdem keine Tatsache bekannt geworden, die dagegen spräche, manche aber, die der Auffassung neue Stützen gibt. (Es sei erwähnt, daß durch neuere noch nicht veröffentlichte Untersnchnngen von Neresheimer auch für *Opalina* jener Beweis auf das eleganteste erbracht ist.) Aber auch die hier besprochenen Fälle dürften sich so am besten einem einheitlichen Vorstellungskreis einreihen und so die prinzipielle Erscheinung der Doppelkernigkeit auch auf bisher noch nicht so zu betrachtende Organismen ausdehnen. Die Formen, die von uns hier betrachtet wurden, zeichnen sich alle (bis auf *Paramoeba eilhardi*) dadurch aus, daß bei ihnen die Doppelkernigkeit nicht dauernd in Erscheinung tritt, wie bei beschalten Rhizopoden und Infusorien. Sie wird erst deutlich bei den Kernteilungen, bei denen der trophische Kernanteil in Form des Nukleolo-Centrosoms, der Archoplasmakugel, des spongiösen Centrosoms zum Vorschein kommt, in gleicher Weise, wie er sich in den *Dytiscus*-Ovocyten im gleichen Zustand in Form des Chromatinrings (Giardina 1901) zeigt. Eine lückenlose Reihe führt also von *Euglena* über *Amoeba limax* zu *Noctiluca*, zu *Paramoeba* und den Infusorien und als besonderem Fall den beschalten Rhizopoden: Bei *Euglena* der trophische Kernteil als Nukleolo-Centrosom innerhalb des Kerns gesondert verteilt, bei *Amoeba limax* noch innerhalb des Kerns, aber als Polkörper außerhalb der mitotischen Figur, bei *Noctiluca* als Sphäre vollständig vom Kern getrennt während der Teilung und bei *Paramoeba* als Nebenkörper. den Infusorien als Makronukleus dauernd vom Kern getrennt. Zu den Verhältnissen der Metazoen, bei denen die vollständige Trennung nur in den Geschlechtszellen erfolgt, leitet dann *Actinosphaerium* über. Bei diesem ist in den somatischen Kernteilungen auch nichts von verschiedenen Kernbestandteilen zu erkennen und nur, wenn der Kern sich zu der ganz anders verlaufenden Richtungsteilnng anschickt, tritt plötzlich das somatische Chromatin aus dem Kern aus, wird ebenso wie bei den Geschlechtszellen der Metazoen das die Chromosomen aufbauende propagatorische Chromatin rein heraus-

gearbeitet. Niemals hat man aber bisher etwas derartiges bei Protozoen beobachtet, bei denen die beiden Kerne als getrennt betrachtet werden müssen, eine Tatsache, die natürlich auch für obiges spricht. Zweifellos lassen sich gegen diese Theorie auch Bedenken geltend machen, welche hauptsächlich in der Frage bestehen, ob es berechtigt ist, eine Unterscheidung von zweierlei Chromatinarten in der Zelle anzunehmen. Denn es ist auch die Möglichkeit gegeben, die starke Ausbildnng der Chromidien bei den Geschlechtszellen, bei den Gewebszellen usw. und bei den Fortpflanzungsvorgängen der Protozoen als einen Ausdruck von erhöhter Zelltätigkeit aufzufassen. Die Untersuchungen R. Hertwig's an Protozoen haben gezeigt, daß die Chromidialausbildung in enger Beziehung mit der letzteren steht. Diesen Ideengang hat einer von uns an einer anderen Stelle näher zu verfolgen gesucht (Popoff). Freilich muß man trotzdem zngeben, daß unsere Kenntnisse über die Physiologie der Zelle noch so mangelhaft sind, daß ein Versnch, die so komplizierten Fortpflanzungsvorgänge bei den Protozoen, besonders nach den Befunden der letzten Jahre, einheitlich aufzufassen und befriedigend im Zusammenhang mit den gleichwertigen Erscheinungen der Metazoen zu erklären, vorderhand, außer auf Grund der Annahme der Kernduplizität der Zelle, noch nicht durchführbar ist.

München, den 21. Juni 1906.

Literaturverzeichnis.

1) Blochmann, F. (1894): Über die Kernteilung bei Euglena. Biol. Centralbl. Bd. XIV S. 194—197.

2) Boveri, Th. (1900): Zellenstudien. Heft 4: Über die Natur der Centrosomen. Jena.

3) Bütschli, O. (1889): Cystoflagellaten. Bronn's Kl. und Ordn. V. 1.

4) — (1891): Über die sogenannten Centralkörper der Zelle und ihre Bedeutung. Verh. des naturhist. medic. Vereins in Heidelberg. N. F. Bd. IV S. 535 —538.

5) Calkins, G. N. (1898): The phylogenetic significance of certain protozoan Nuclei. Ann. of the New-York Acad. of Sci. XI p. 379—397.

6) — (1899): Mitosis in Noctiluca miliaris and its bearing on the nuclear relations of the Protozoa and Metazoa. Journ. of Morphol. V. 15 p. 711—770.

7) Doflein, F. (1900): Zell- und Protoplasmastudien. I. Heft: Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. Nach Untersuchungen an Noctiluca und anderen Organismen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. XIV S. 1—60.

8) Goldschmidt, R. (1904a): Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V S. 126—144.

9) — (1904b): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. (Histologische Untersuchungen an Nematoden. II.) Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. XXI H. 1 S. 49—141.

10) — (1905): Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus. Ibid., Bd. XXI H. 4 S. 607—655.

11) Heidenhain, M. (1893): Über die Centralkörpergruppe in den Lymphocyten der Säugetiere während der Zellenruhe und der Zellteilung. Verh. d. Anat. Ges. S. 54—70.

12) — (1894): Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43 S. 423—758.

13) Hertwig, R. (1889): Über die Konjugation der Infusorien. Abh. d. k. bayer. Akad. d. Wiss., II. Kl., Bd. XVII Abt. I S. 1—83.

14) — (1892): Über Befruchtung und Konjugation. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. S. 95—112.

15) — (1895): Über Centrosom und Centralspindel. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München, 9. Juli, S. 41—59.

16) — (1896): Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigel-Eies. Festschrift für Carl Gegenbaur.

17) — (1898): Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Abh. bayer. Akad. Wiss. Bd. 19 S. 1—104.

18) — (1902): Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I S. 1—38.

19) Ischikawa, C. (1891): Vorläufige Mitteilungen über die Konjugationserscheinungen bei den Noctiluceen. Zool. Anz. Bd. 14.

20) — (1894): Über die Kernteilung bei Noctiluca miliaris. Ber. Naturf. Ges. Freiburg Bd. 8 S. 54—69.

21) Keuten, J. (1895): Die Kernteilung von Euglena viridis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60.

22) Lauterborn, R. (1896): Bemerkungen zum Vortrag Schaudinn's: Über das Centralkorn der Heliozoen. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. S. 131—134.

23) — (1896): Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig, Engelmann.

24) Mesnil, F. (1905): Chromidies et Questions connexes. Bull. de l'Inst. Pasteur Vol. 3 Nr. 8 p. 1—10.

25) Meves, F. (1900): Über den von La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 56.

26) Popoff, M. (1906): Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Mit Anhang: Zu der Frage nach dem Spermatozoendimorphismus bei Paludina vivipara. Im Druck in Arch. f. mikr. Anat.

27) Schaudinn, F. (1894): Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung bei Amoeba crystalligera. Sitzungsber. d. Akad. Wiss. Berlin S. 1029—1036.

28) — (1895): Über die Teilung von Amoeba binucleata. Sitzungsber. d. Ges. Naturf. Freunde Berlin S. 130—141.

29) — (1896a): Über den Zeugungskreis von Paramoeba eilhardi (n. g., n. sp.). Sitzungsber. Akad. Wiss. Berlin S. 31—41.

30) — (1896b): Über das Centralkorn der Heliozoen, ein Beitrag zur Centrosomenfrage. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. S. 113—130.

31) — (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arh. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XIX H. 3 S. 547—576.

32) — (1905): Die Befruchtung der Protozoen. Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1905.

33) Schewiakoff, W. (1888): Über die karyokinetische Kernteilung der Euglypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. XIII S. 193—259.

34) Sjövall, E. (1905): Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. (Zugleich ein Versuch, die Wirkungsweise der Osmiumsäure zu analysieren.) Anat. Hefte, I. Abt., H. 91 S. 260—391.

35) Steuer (1903): Über eine Euglenoide (Entreptia) aus dem Canal Grande von Triest. Arch. f. Protistenk. Bd. III p. 126—137.

36) Vahlkampf, E. (1904): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax, einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Inaug.-Dissert. Marburg. 54 S.

37) Winiwarter, K. v. (1901): Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères. Arch. de Biol. T. XVII.

38) Zweiger, H. (1906): Die Sperr atogenese von Forficula auricularia. Zool. Anz. Bd. XXX Nr. 7.

Beobachtungen über die Kernverhältnisse von *Loxodes rostrum* O. F. M.

Von
H. Joseph, Wien, II. zoologisches Institut.

(Hierzu Tafel XIV.)

Im Spätherbst des Jahres 1905 trat in einem Süßwasseraquarium unseres Institutes das interessante Iufusor *Loxodes rostrum* O. F. M. in ungeheueren Mengen auf. Das betreffende Aquarium enthielt Bodensatz aus einem Tümpel des Wiener Praters, der zusammen mit einer geringen Menge Wassers mittels des bei uns gebräuchlichen Schlammsaugers entnommen und im Laboratorium mit einer vielfach größeren Menge Wassers aus der Hochquellenleitung aufgefüllt worden war. Ich hatte dieses Tier trotz vielfacher Beschäftigung mit der reichen Süßwasserfauna und hauptsächlich den Protozoen aus der Umgebung von Prag und Wien erst einige wenige Male in einzelnen Exemplaren gesehen und es mußte daher das massenhafte Auftreten dieses für mich seltenen Organismus meine größte Aufmerksamkeit wachrufen.

Da ich von der vollendeten Tatsache des massenhaften Vorhandenseins überrascht wurde, entging mir die Gelegenheit, das allmähliche Auftreten des Schwarmes zu beobachten, wobei ich vielleicht zahlreiche Teilungsstadien hätte zu Gesicht bekommen können. Ich fand deren im weiteren Verlaufe nur ganz wenige vor und bin dadurch gewiß um die Gelegenheit ausführlicherer Beobachtungen über diesen Vorgang gekommen. Selbstverständlich war ich darauf bedacht, mir die wertvolle Kultur möglichst lange zu erhalten, und versuchte demgemäß Weiterzüchtungen in anderen Gefässen. Sämt-

liche Versuche in dieser Richtung schlugen fehl. Weder in Hochquell-, noch in Tümpelwasser, weder in hohen Glasgefäßen noch in flachen (Petrischalen und Uhrschalen) gelang mir eine Weiterzucht, meist waren nach wenigen Stunden die Tiere tot oder bereits ganz aufgelöst und verschwunden. Merkwürdigerweise fielen ein paar Versuche, die Tierchen zwischen Deckglas und Objektträger ohne jeglichen Randverschluß in der feuchten Kammer zu halten, besser aus, indem sie daselbst mehrere Tage am Leben blieben; aber diese Kulturen boten mir keinerlei Möglichkeit zu den angestrebten Untersuchungen. Die Urkultur hielt sich ungefähr 14 Tage lang, nahm dann ersichtlich von Tag zu Tag an Menge ab und verschwand schließlich, ohne irgend welche Spur zu hinterlassen. Was das Benehmen der Tiere in dem ziemlich großen Aquarium betrifft, so erfüllten sie als eine auffällige, aus mit freiem Auge erkennbaren weißen Strichelchen bestehende Wolke, so ziemlich die ganze Wassermasse, mit Ausnahme einer Oberflächenschicht von wechselnder Dicke (1—3 cm), in welcher sich nur vereinzelte Individuen fanden. Eine ausgesprochene Phototaxis konnte niemals festgestellt werden. Außerdem fanden sich aber sehr große Mengen von Tieren im Bodensatz vor, in dem sich auch die Hauptmasse ihrer Nahrung vorfand (Diatomaceen, Oscillarien, Desmidiaceen, Protozoen verschiedener Art), ohne daß sich aber ein Unterschied im Aussehen oder Benehmen der freischwimmenden und der im Bodensatz gleitenden hätte feststellen lassen. Wie bei vielen anderen schlingenden Ciliaten konnte man auch hier oft sehr starke Deformationen durch aufgenommene unverhältnismäßig große Nahrungsstücke (hauptsächlich Oscillarien) beobachten, die die Außenschicht des Plasmas gelegentlich stark vorbuckelten und häufig bei der Konservierung, offenbar infolge der Plasmakontraktion, nach außen durchstießen. Über die allgemeine Morphologie des Körpers, die Plasmastruktur usw. finden wir in den älteren Arbeiten ausführliche Angaben, so daß ich mich hier hauptsächlich auf die Besprechung der Kernverhältnisse beschränken werde, soweit sie mir als Ergänzungen der alten Schilderungen und als Ausgangspunkt für weitere Erörterungen und Untersuchungen von Wert zu sein scheinen. Die Literatur über unser Infusor findet sich bei Balbiani und Bütschli vollständig zusammengestellt und referiert; wir werden uns auf die älteren Arbeiten bei passender Gelegenheit beziehen.

Bei der Untersuchung der Kernverhältnisse von *Loxodes* sah ich bald ein, daß verläßliche und reichliche Resultate nur am konservierten und gefärbten Objekte zu erzielen waren. Die lebenden

Tiere, vor allem die grösseren, haben oft ein sehr dunkles Plasma, welches noch dazu von verschieden großen Fremdkörpern in Menge durchsetzt sein kann, so daß die Kerne nur sehr schwer wahrnehmbar, geschweige denn zählbar sind, die Kleinkerne noch dazu wegen ihrer geringen Größe und unscheinbaren Beschaffenheit, vor allem wenn sie von den Großkernen weiter entfernt liegen, mit anderem Plasmainhalt leicht verwechselt werden können.

Ich war daher bedacht, mir reichliche Mengen brauchbarer Präparate herzustellen. Die Methoden hierzu habe ich in langjähriger Übung allmählich für meinen Gebrauch herausgearbeitet, und obwohl sie im Elementaren nichts Neues enthalten, will ich doch einiges darüber hier sagen. In diesen Dingen geht wohl zwar jeder am liebsten seinen eigenen Weg, doch dürfte es Manchem nicht unwillkommen sein, fremde Handgriffe mit den selbstgeübten zu vergleichen.

Bei reichlich vorhandenem Material wende ich an kleinen Objekten als einzig zufriedenstellende Methode das Centrifugieren auf sämtlichen Etappen der Behandlung an. Der größte Vorteil liegt nicht etwa in der gleichwohl schätzbaren Zeitersparnis gegenüber der „Senkmethode“ und anderen, sondern darin, daß man den bei anderen Methoden unvermeidlichen, allzu langen Aufenthalt in gewissen Reagentien umgeht. Bei gewissen Fixierungsmitteln ist der zu lange Aufenthalt direkt ein Schaden, wenn er z. B. die Färbbarkeit herabsetzt und ähnliches. Mit der Centrifuge kann ich aus einer Protozoenkultur in einer halben bis einer Stunde schöne, in Balsam eingeschlossene Totopräparate erzielen. Hat man in einer Flüssigkeit relativ wenig Protozoen, so kann man durch wiederholtes Centrifugieren, Abgießen, abermaliges Zugießen von protozoenhaltiger Flüssigkeit, Centrifugieren usw. schon nach einigen solchen Touren eine ansehnliche Menge von Tieren beisammen haben. Doch ist dies nicht immer ratsam. Manche Arten leiden unter dem wiederholt auf sie im lebendigen Zustande einwirkenden Druck und können selbst ganz unbrauchbar werden. Deshalb ist es besser, vor allem zartere Formen höchstens einmal zu centrifugieren und den Bodensatz darauf sofort mit Fixierungsflüssigkeit aufzuschwemmen, oder aber das Centrifugieren der lebenden Tiere ganz zu unterlassen. Hier kommt es ganz auf die Art der Fixierungsflüssigkeit an. Sublimat, das in konzentrierter Lösung angewandt werden muß, erfordert Abcentrifugieren des Wassers. Formol, das sich häufig sehr bewährt, setzt man einfach der abgemessenen Kulturflüssigkeit in entsprechender Menge zu und centrifugiert die getöteten Tiere, die dadurch

keinerlei Beschädigung, auch bei oft wiederholter Manipulation, erleiden. Die beste Methode ist jedenfalls die Konservierung mit schwacher Flemming'scher Lösung. Ich stelle mir eine solche in der Weise her, daß ich nur das halbe Wasserquantum dazu nehme, und nun gleiche Mengen von protozoenhaltigem Wasser und der Lösung zusammengieße und durchmische, wodurch natürlich die normale Lösung entsteht und eine rasche und sichere Fixierung eintritt. Vielfach verwende ich auch Mischungen von Sublimat und Flemming'scher Lösung, die aber vorheriges Lebendcentrifugieren erfordern. Die Einwirkung der fixierenden Agentien kann meiner Erfahrung nach bei solch kleinen und zarten Objekten nicht kurz genug sein. Spätestens nach einer Minute entferne ich durch Centrifugieren die Flüssigkeit, ersetze sie durch Wasser, das (immer durch Centrifugieren) mehrmals gewechselt wird, und bringe auf dieselbe Weise die Objekte durch allmählich steigenden Alkohol bis etwa 80 Proz. Dann, immer mit Hilfe der Centrifuge, in Wasser zurück, auf ein paar Minuten bis eine viertel oder halbe Stunde in die Farbe (geringe Menge), meist Pikrokarmin oder Boraxkarmin, nach Ablauf der Zeit wird die Farbe durch Auffüllen der ganzen Eprouvette mit Wasser stark verdünnt und eine Probe unter dem Mikroskop untersucht. Ist die Färbung genügend, so folgt mehrmaliges Wechseln des Wassers, steigender Alkohol (nicht plötzlich starker — Schrumpfung, auch bei gut fixierten Objekten!) absoluter Alkohol, Xylol. Aus dem gefärbten Bodensatz wird nun eine kleine Probe mit einer feinen Pipette entnommen, auf einen Objektträger gebracht, das sich ausbreitende Xylol unter minimalem oder gar keinem Verlust an Tiermaterial mit einem Stück Filtrierpapier rasch abgesogen, an zwei gegenüber liegende Stellen des Protozoenhäufchens je ein entsprechend großer Tropfen Damarlack oder ähnliches gebracht und ein Deckglas aufgelegt. Man vermeidet so zum größten Teil das lästige An-den-Rand-Schwimmen einer großen Anzahl von Tieren. Ist der Haufen sehr dicht, so kann man auch auf ihn einen kleinen Tropfen Balsam bringen und mit einer feinen Nadel ein wenig durcheinander rühren, damit die Tiere nicht allzu sehr aneinander kleben. Stützen des Deckglases, um das Präparat vor dem Zerdrücktwerden zu bewahren, sind nur bei besonders großen Infusorien (*Stentor*) nötig, unvermeidliche Fremdkörper, wie Diatomeenschalen, kleine Anneliden, Detritus usw. und die Anwendung nicht allzu dünnflüssigen, also nicht stark schwindenden Balsams verhüten dieses unangenehme Ereignis in der Regel. Auch die Paraffineinbettung kann man zweckmäßig anschließen, nachdem man die Objekte in Xylol gebracht hat. Ich habe auf die

angegebene Weise mühelos auf Jahre reichende Vorräte an Kursmaterial, sowohl für Totopräparate als für Paraffinschnitte, von verschiedenen Protozoen, Seeigelbefruchtungsstadien, Rotatorien usw. angehäuft. Übrigens möchte ich hier daran erinnern, daß M. Heidenhain in ähnlicher Weise Kursmaterial von Blutkörperchen, isolierten Zellen u. a. vorbereitet. Die geschilderte Methode der Balsameinschließung muß sehr rasch gehen (zur Verhütung der Austrocknung,) und jedenfalls viel kürzer dauern als deren hier gegebene Beschreibung.

Das hauptsächlichste Studium erfolgte an Totopräparaten, auf diese bezieht sich das meiste von den nun folgenden Angaben.

Bei der Betrachtung von, ich kann wohl sagen, Tausenden von *Loxodes*-Exemplaren konnte ich mir über die am normalen Tiere feststellbaren Kernverhältnisse insofern ein klareres Bild verschaffen, als die bisher damit beschäftigten Autoren, als ich drei scharf charakterisierte Typen unterscheiden konnte, die im höchsten Grade konstant sind. Es ist außerordentlich schwierig, Tiere zu finden, die man mit gutem Gewissen als Übergänge zwischen den Typen ansehen kann und ich muß daher schon im vornherein betonen, daß ich bezüglich dieses Punktes ebenso wie meine Vorgänger nur auf Vermutungen angewiesen bin. Wie aus meinen früheren Angaben hervorgeht, konnte ich kontinuierliche Beobachtungen der Kerne eines und desselben lebenden Tieres aus mannigfachen Gründen nicht vornehmen. Die früheren Autoren haben sich, wie selbstverständlich, mit der Annahme beholfen, daß aus den wenigkernigen durch Kernteilung die vielkernigen Formen entstehen. Sie konnten jedoch ebensowenig wie ich, Kernteilungen beobachten. Mich dieser Annahme in der hier wiedergegebenen einfachen Form anzuschließen, verbietet mir die Kenntnis der typischen Formen, welche den früheren Autoren fehlte und welche zum mindesten eine wesentliche Modifikation jener einfachen Annahme erfordern dürfte. Nur Bütschli (2) hat ein paar Beobachtungen mitgeteilt, die an meine Befunde erinnern und auch eine Vermutung ausgesprochen, die ich wenigstens zum Teile auch mir zu eigen machen werde.

Um mich in der Ausdrucksweise einer gewissen Einfachheit bedienen zu können, will ich für die drei von mir aufgestellten Typen die Bezeichnungen A, B und C einführen, und will weiter unten eine Beschreibung derselben vornehmen. In erster Linie habe ich mich hierbei an die ungemein charakteristische Anzahl und Anordnung der Kerne zu halten.

Vorausschicken möchte ich noch, daß ich mich in der Be-

nennung der Körperregionen an Bütschli's Nomenklatur anschließe und demgemäß an dem Tiere unterscheide: Vorder- und Hinterende, rechte und linke Seite, Dorsal- und Ventralkante. Die rechte Seite ist gestreift und bewimpert, die linke glatt und wimperlos, das Peristom liegt an der ventralen Kante, die Reihe der „Müller'schen Bläschen oder Vakuolen" an der Dorsalkante. Bei anderen Autoren finden wir eine Unterscheidung von Rücken- und Bauchfläche (anstatt rechts und links) z. B. bei Balbiani.

Was die allgemeine Lagerung der Kerne betrifft, so liegen sie ausnahmlos im Bereiche der rechten Seite in ziemlich oberflächlicher Lagerung, unmittelbar unter dem dünnen Ektoplasma, wie dies schon aus der Figur 13 in Balbiani's Arbeit hervorgeht. Niemals habe ich Kerne im Innern, etwa in den Netzen oder Balken des grob vakuolären Endoplasmas gesehen, ebensowenig an der linken Körperfläche. Diese unabänderliche Lage scheint mir vom allgemein-physiologischen Standpunkte recht bedeutsam. Wissen wir doch einerseits, daß eine unzweifelhafte Beziehung zwischen den Kerngebilden und den motorischen Organellen, vor allem den Geißeln der Flagellaten (ich erinnere nur an die neueren wichtigen Untersuchungen von Schaudinn und v. Prowazek über Trypanosomen, anderer früherer Arbeiten nicht zu gedenken) besteht, andererseits daß der unleugbare morphologische und physiologische Zusammenhang zwischen Centralkörpern, Cilien und Geißeln bei Metazoenzellen (Spermien, Flimmer- und Geißelzellen) mit großer Wahrscheinlichkeit phylogenetisch auf das ersterwähnte Verhältnis zurückläuft. Bei Ciliaten hat man früher auf solche Verhältnisse kaum geachtet. Doch scheint mir gerade die Topographie der Kerne bei *Loxodes* in diesem Sinne verwertbar zu sein. Die einseitige Ausbildung der Cilien und die gleichsinnige Lagerung der Kerne ist denn doch zu auffallend, um nicht zur Annahme einer Analogie herauszufordern. Freilich ist ein wirklicher anatomischer Zusammenhang zwischen Kernen und Cilien bei Infusorien nicht nachgewiesen, während derselbe ja bei flagellatenartigen Formen mitunter ein ungemein deutlicher ist. Noch ein anderer Punkt käme in Betracht. Wir sind gewohnt, die Kerne als Beherrscher des Zellstoffwechsels anzusehen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß der Stoffwechsel der ein unermüdliches Wimperspiel zeigenden rechten Seite ein regerer sein muß, als der der unbewimperten linken, und daß dem erhöhten Stoffwechselbedarf der rechten Seite die Lagerung der Kerne dienlich ist. Möglicherweise stehen beide Prinzipien, auf die ich mich hier berufe, in innigem Zusammenhang.

Die Hauptmasse der Kerne liegt der Dorsalkante genähert, bei den vielkernigen Formen meist in einem langgestreckten Hanfen, die Mitte der Seitenfläche enthält verhältnismäßig wenige, in die Nähe der ventralen Kante verirren sich nur gelegentlich welche. Glanbt man beobachten zu können, daß ventral eine größe Menge von Kernen liegt, so hat man es meistens mit Exemplaren zu tun, deren Kanten stark auf die linke Seite umgerollt sind (vgl. über diese Umrollung die Fig. 2 bei Balbiani).

Charakteristisch erschien mir in der Kernverteilung auch folgendes. Weiter nach vorn, als bis zum hintersten Ende der Peristomrinne reichen die Kerne niemals, der Beginn des Schlundrohres bezeichnet die vordere Grenze des Kernlagers. Auffallenderweise ist dieses Niveau auch eine Grenzmarke für ein anderes Verhalten. Etwas hinter der hakenförmig umgebogenen Spitze des rüsselartigen Vorderendes beginnt an der Dorsalkante die Reihe der „Müller'schen Blasen“ mit ihren eigentümlichen stark lichtbrechenden Binnenkörpern. Anfangs sind diese Vakuolen so dicht gedrängt, daß sie einander direkt berühren, nach hinten zu treten immer größer werdende Zwischenräume auf. (Dies gilt natürlich nur für die großen Exemplare, bei den kleinen ist naturgemäß weder von der großen Ausbreitung der Kerne, noch von der dichten Lagerung der Vaknolen die Rede.) In jenem Niveau nun, wo das Schlundrohr und der Kernhanfen beginnt, hört gewöhnlich die kontinuierliche Aneinanderreihung der Müller'schen Vakuolen auf. In gleicher Weise ist auch das Hinterende in ungefähr demselben Längenansmaß wie das Vorderende von Kernen frei. In der unmittelbaren Nähe des Schlunddrohres konnte ich nur sehr selten einen Kern wahrnehmen (meist Mikronuklei).

Die Erkennung der Kerne überhaupt, und die Unterscheidung zwischen Großkernen und Kleinkernen im besonderen ist im gefärbten Präparate ungemein leicht. Bekanntlich haben die Großkerne einen vom gewöhnlichen Ciliatentypus bedeutend abweichenden Bau. Die Form der Makronuklei ist mit wenigen Ausnahmen streng sphärisch. Die Größe schwankt gewöhnlich zwischen 5 und 8 μ. Eine Membran läßt sich mit großer Deutlichkeit nachweisen, was auch schon Bütschli betont, schon am frischen Kerne (und da eigentlich am besten) dadurch, daß man durch Deckglasdruck einen Makronukleus sprengt (Fig. 25). Ein solcher Kern nimmt dann regelmäßig im Umriß die gezeichnete Halbkreisform an, dessen Durchmesser entsprechend der Kerninhalt herausquillt, während die Konvexität durch die deutlich als glänzender Kontur erkennbare Membran abgeschlossen wird. An gefärbten Totopräparaten ist die Membran, infolge ihrer

geringen Färbbarkeit im besten Fall nur als eine zarte Linie zu erkennen, an mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnitten gelegentlich sehr deutlich schwarz imprägniert (Fig. 37). Auf die Membran folgt ihr dicht anliegend eine fein granulierte Kugelschale. Der centrale große Binnenkörper ist von dieser Kugelschale durch einen, auch im frischen Zustande nachweisbaren hellen Spaltraum getrennt. Nur sehr selten ist an Totopräparaten und an Schnitten von diesem nichts nachzuweisen (Fig. 21 und 37). Die granulierte Kugelschale zeigt manchmal lokale Verdickungen (Fig. 12 unterer Kern), sogar ganz excentrische Ausbildung kommt vor (Fig. 20 und 34, linker oberer Kern), was natürlich auch die normale centrale Lage der Binnenkörper beeinflußt. Gelegentlich kann die Substanz der Kugelschale größere und stärker färbbare Granulationen enthalten und so Übergänge zu den selteneren Kernformen bilden, deren Beschreibung bei späterer Gelegenheit folgen wird (Fig. 22 unterer, Fig. 34 rechter unterer Ma). Der Binnenkörper ist in der Regel kugelrund, oder wenig davon abweichend, seine Größe zwischen 3 und 4 μ, seine Substanz läßt keinerlei Strukturen erkennen, in welchem Zustande man sie auch immer untersuchen mag, meistens aber sind eine oder mehrere kleine Vakuolen zu finden, die beliebig gelagert sind und in schwächer gefärbten Kernen von einem dunkleren Kontur begrenzt erscheinen (Fig. 34, 35 und andere).

Radiäre Fäden, welche nach Bütschli von der Kugelschale zum Binnenkörper gehen, konnte ich, nach keiner Behandlungsmethode bemerken, ebensowenig die von Balbiani in Fig. 11 gezeichnete Verdoppelung der Kugelschale. (Hier möchte ich auch bemerken, daß die von diesem Autor in Fig. 8 und 9 gezeichnete schalige Struktur der Binnenkörper in den Müller'schen Blasen durchaus nicht zutreffend ist. Dieselben präsentieren sich im Gegenteil als kugelrunde dichte Konglomerate von kleinsten Körnchen oder Kügelchen.

Von den Kleinkernen ist wenig zu sagen, meist kleiner als die im selben Tiere vorhandenen Makronukleusbinnenkörper (2—3 μ), sind sie von durchaus homogener Beschaffenheit, auch vollkommen vakuolenfrei und stärker färbbar als die letzteren. Freiliegende sind kugelig oder knollig geformt, den Makronuklei anliegende können halbmond- oder napfförmig erscheinen.

Der von Wrzesniowski behauptete und gezeichnete Verbindungsstrang zwischen den einzelnen Makronuklei darf wohl als endgültig abgetan betrachtet werden, wofür Bütschli als im höchsten Grade beweisendes Argument das Ausbleiben einer Konzentration und Vereinigung der Großkerne bei dem Teilungsvorgang anführt, während

dies bekanntlich bei den moniliformen Kernen anderer Arten regelmäßig eintritt.

Wir gehen nun an die Beschreibung der drei Typen.

Typus A. Derselbe ist in seiner Idealform durch Fig. 4 meiner Tafel vergegenwärtigt. Zwei Großkerne von ansehnlicher Größe liegen parallel der Längsachse, etwa in der Mitte derselben und der Dorsalkante ziemlich nahe, so eng beieinander, daß zwischen ihnen nur so viel Raum bleibt, um einen runden Mikronukleus, der beide Makronuklei eben noch tangential berührt, einzuschließen. Auch der Mikronukleus ist von relativ bedeutender Größe. Diese Form hat Bütschli bereits richtig beschrieben. Auf andere Eigenschaften dieses Typus gehe ich erst bei der Vergleichung mit B ein Fig. 19 zeigt die Kernverhältnisse bei starker Vergrößerung.

Typus B. Fig. 6. Dieser ist ausgezeichnet durch den Besitz von zwei Makro- und zwei Mikronuklei, welche zwei Makro-mikronukleusgruppen, wie ich sie nennen möchte, bilden. Schon aus Angaben meiner Vorgänger geht hervor, daß es diese Form ist, welche von Engelmann als *Drepanostoma striatum* beschrieben wurde. Wahrscheinlich ist sie auch identisch mit Perty's *Pelecida costata*. Die Form findet sich bei Engelmann und Balbiani abgebildet, jedoch ist ein sehr auffallender, und wie mir scheinen will, auch sehr wesentlicher Punkt diesen Autoren unbegreiflicherweise entgangen und sind die betreffenden Abbildungen diesbezüglich fehlerhaft. Wie Engelmann betont, liegen die beiden Kerngruppen an der vorderen und hinteren Grenze des mittleren Körperdrittels. Sie sind wie die Kerne von A der Dorsalkante stark genähert. Jede Makromikronukleusgruppe zeigt folgende Eigenschaften: Der Makronukleus ist von deutlich geringerer Größe als bei Typus A, ihm liegt der Mikronukleus unmittelbar an als halbmond- oder nierenförmiges Gebilde, das sich an die Makronukleusmembran mit seiner Konkavität sehr innig anschmiegt. Ausnahmslos sind die Mikronuklei an der der Mitte des Tieres zugewandten Makronukleusseite gelagert, so daß sie einander entweder ganz gerade oder nur ganz wenig seitlich verschoben gegenüberstehen, wie dies Fig. 6 zeigt. Sind sie ein wenig seitlich verschoben, so ist dies bei beiden immer nach der gleichen Seite der Fall. Die Größe der Kerngruppen eines Tieres ist die gleiche. Fig. 23 u. 24 zeigen zwei Kerngruppen aus zwei verschiedenen B-Exemplaren. Das geschilderte Lageverhältnis ist so konstant, daß ich trotz absichtlichen eifrigen Suchens eine Ausnahme (bei normaler Kernzahl!) niemals auffinden konnte. Um so auffallender muß es sein, wenn Engelmann seiner sonst so vorzüg-

lichen Beschreibung eine Abbildung beifügt, in welcher die Mikronuklei beider Gruppen nach hinten gerichtet sind, während sie bei Balbiani umgekehrt nach vorne von den Makronuklei zu liegen kommen und ich kann in beiden Fällen nur an einen Irrtum der bewährten Beobachter glauben.

An Unterschieden zwischen A und B kann man außer den angeführten auf Kernzahl und -anordnung, Mikronukleusform und Makronukleusgröße bezügliche noch Folgendes anführen. Die B-Individuen haben ein ganz helles, glasartig durchsichtiges Plasma, auch die Pigmentierung des Peristoms und Schlundes ist im besten Falle bloß angedeutet. Der A-Typus hat ein oft schon recht dunkles Plasma, wie es nach der Ansicht der Autoren den größeren (= älteren) Tieren zukommt. Sehr auffallend ist im allgemeinen die Größen- und Proportionsdifferenz der beiden Typen. A erscheint als das größere, dabei aber im Verhältnis zur Länge auch breitere, B ist kleiner und verhältnismäßig viel schlanker. (Fig. 4 u. 6.) Doch zeigt sich, daß die Längendifferenz im Mittel bei einer größeren Anzahl von Individuen bloß eine minimale ist. Der Breitenunterschied fällt aber umsomehr ins Gewicht, als die A-Tiere meistens jene Umrollung des Dorsal- und Ventralrandes gegen die linke Seite zeigen, wie sie auch den großen Tieren zukommt, und daher dem Beobachter nicht die ganze Breitseite zukehren. In gewissen Präparaten erscheinen sämtliche A-Tiere bedeutend breiter, weil diese Umrollung ausgeglichen ist. Daher erscheint die Breite der A-Tiere meist geringer als in Wirklichkeit.

In ein paar Tabellen, die ich aus bestimmten Gründen erst weiter unten bringe, werden die Ergebnisse solcher Messungen ersichtlich sein.

Auch die Anzahl der Müller'schen Vakuolen schien mir einen Unterschied zwischen A und B zu ergeben, indem sie bei A zahlreicher waren; doch sind gerade diese Zahlen sehr klein, dabei ihre individuellen Schwankungen sehr groß (2—8), so daß ich darauf kein allzu großes Gewicht legen möchte.

Auf die Abweichungen von den beiden Typen kommen wir bei späterer Gelegenheit zurück, ich verweise vorläufig diesbezüglich auf die Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 u. 18, die ja im Hauptsächlichen keiner Erläuterung bedürfen.

Typus C. Während wir bei A und B neben der selbstverständlichen, als Hauptmerkmal verwendeten Konstanz der Kernverhältnisse auch eine deutliche Größenkonstanz nachweisen konnten, sind bei C gleichzeitig mit der Kernzahl auch die Größenmaße

starken Schwankungen unterworfen. Bei früheren Autoren finden wir die Ansicht ausgesprochen, daß Größe und Kernzahl in einem gewissen geraden Verhältnis stehen, und im allgemeinen hat dies auch seine Richtigkeit. Doch genügt ein Hinweis auf die Tabelle III, Nr. 31, um zu zeigen, daß auch auffallende Ausnahmen vorkommen. Den Typus C betreffen die Fig. 1, 2, 3 u. 5. Außer der bedeutenden Körpergröße, dem sehr dunklen, viele Einschlüsse enthaltenden Plasma der dunkleren Schlundpigmentierung, drängen sich noch eine Anzahl Merkmale auf, die bei A und B vermißt wurden: Die große Kernzahl und die damit einhergehende regellose oder minder gesetzmäßige Anordnung und Verteilung der Kerne (betreffend einiger Punkte verweise ich auf S. 350), die größere Anzahl der Müller'schen Vakuolen. Die Großkerne halten in ihrer Größe ungefähr die Mitte zwischen denen von A und B oder sind wenigstens kleiner als die von A. Nur bei C kommen die mannigfachen Abweichungen ihrer Struktur vor, die auf der Tafel ersichtlich sind (Fig. 22, 30, 31, 32, 34, 38, 39). Die Kleinkerne haben verschiedene Formen, von der streng runden, zur knolligen bis zur halbmond- oder schüsselförmigen. Ob die manchmal sichtbaren zweiteiligen Mikronuklei (Fig. 1 unten, auch Fig. 10 Mitte) Teilungszustände sind, möchte ich nicht entscheiden.

Die Lage beider Kernarten zueinander ist eine sehr wechselnde. Neben enger Aneinanderlagerung wie bei A oder B ist es weitaus der häufigste Fall, daß die Mikronuklei in größerer oder geringerer Entfernung von den Makronuklei liegen (auch die halbmondförmigen Gestalten), oft liegen die Mikronuklei ganz abseits und isoliert. Auffallend ist in Fig. 2, daß die hintere Hälfte des Tieres nur einen Kleinkern enthält, während man sonst eine annähernd gleichmäßige Verteilung bemerkt. Ein sich in vielen Fällen wiederholender Charakter ist der, daß die vordersten Makro- und Mikronuklei oft in größerer Anzahl, streng alternierend, eine zierliche Reihe bilden (Fig. 1 u. 3), die man sogar andeutungsweise und etwas unvollständig bis weit nach hinten verfolgen kann (Fig. 3). Keinesfalls trifft die Angabe von Claparède und Lachmann, daß die Kerne eine mit den Müller'schen Blasen parallele Reihe bilden, vollkommen zu. Bei dieser Reihung findet indessen die enge Berührung der einzelnen Glieder, wie wir sie etwa bei A und B sahen, nicht statt.

Die Zahl der Kerne betreffend, haben die älteren Autoren schon vielfach erschöpfende Angaben gemacht, wobei selbstverständlich auch auf das Zahlenverhältnis zwischen Makro- und Mikronuklei hingewiesen wurde. Im wesentlichen möchte ich mich auf die ange-

führten Tabellen beziehen und nur einige Punkte hervorheben. Was zunächst das Verhältnis von Großkernen und Kleinkernen anlangt, so war es bekannt, daß die Großkerne an Zahl überwiegen. Auch hier will ich mir die Feststellung eines Mittelwertes als unnütz versagen. Ich habe nur einen Fall gesehen, wo die Mikronukleusanzahl unter die halbe Zahl der Makronuklei herabsank (Tab. III, Nr. 27). Das Verhältnis 1:2 kehrt manchmal wieder. Zwischen diesem Verhältnis und einer Näherung an Gleichheit der Anzahl können alle Möglichkeiten vorkommen, ein Maximum mag bei 3:4, 4:5 oder 5:6 liegen. Oft war bei relativ hohen Zahlen die Differenz bloß 1 (Tab. III, Nr. 40, 21 Ma:20 Mi), zweimal fand ich die Mikronuklei um einen zahlreicher als die Makronuklei (Tab. III, Nr. 26, das Tier der Fig. 1—17 Ma:18 Mi, Tab. III, Nr. 4, 19 Ma: 20 Mi). Das Überwiegen der Mikronukleuszahl wird uns noch anderweitig beschäftigen.

Was die Maximalzahl der Makronuklei anbetrifft, so finden wir bei Bütschli 26, bei Wrzesniowski 21, bei Balbiani 21—30, die Abbildung von Stokes (*Loxodes magnus*, jedenfalls identisch mit *Loxodes rostrum*) läßt 20 Makronuklei zählen. Meine Maximalzahl ist 26 (Tab. III, Nr. 31). Doch gebe ich gerne zu, daß ich Tiere mit höheren Zahlen übersehen haben könne, denn ich habe ja nur einen verschwindenden Bruchteil meines Materials gezählt. Über die Anzahl der Mikronuklei findet man in der Literatur keine strikten Angaben, in dem eben erwähnten Fall zählte ich 23. Die kleinste von mir sicher beobachtete Zahl der Kerne überhaupt, wie jeder Art im besonderen ist in der Tab. III, Nr. 16, 8 Ma : 6 Mi. Dazu kommen zwei Zählungen, die mir etwas verdächtig erscheinen, weil die Individuen vielleicht verstümmelt waren (in einem Präparat, das sonst auch viele Zerstörungen der Tiere aufwies) nämlich Tab. III, Nr. 49 und 50, 7 Ma : 5 Mi, 3 Ma : 3 Mi.

Daß die Größe des Tieres, wie schon erwähnt, nicht mit entsprechender Kernzahl einhergehen muß, erhellt aus den Maßen des bereits erwähnten kernreichsten Tieres (26 Ma : 23 Mi) nämlich: Länge 180 μ, Breite 75 μ. Das größte Tier, das ich maß (Tab. III, Nr. 37) hatte: Länge 390 μ, Breite 105 μ, 21 Ma : 16 Mi, die zwei nächsten (Tab. III, Nr. 28 und Nr. 6) beide 380 μ lang, 110 bzw. 85 μ breit (auf den geringen Wert der Breitenmessung wies ich schon hin) hatten 19 Ma : 16 Mi und 19 Ma : 12 Mi. Was die Längenmaße der Tiere anlangt, so gibt Wrzesniowski solche bis 550 μ, Balbiani bis 580 an; ich habe so große Exemplare nicht gefunden, obwohl auch in meinen Präparaten solche vorhanden sein könnten.

Das kleinste Exemplar vom Typus C, das ich maß (Tab. III, Nr. 51), zeigte 145 μ Länge, 55 μ Breite, 9 Ma : 7 Mi, sank also in bezug auf die Größe unter die Mehrzahl der A-, ja sogar vieler B-Individuen.

Auffallend, wenn auch sicherlich ohne jeden ursächlichen Zusammenhang war es, daß bei den C-Tieren eine große Übereinstimmung zwischen der Zahl der Müller'schen Vakuolen und der Großkerne herrschte, gleiche oder annähernd gleiche Zahlen kamen oft vor. Bei den A- und B-Individuen war von einer derartigen Erscheinung selbstverständlich nicht die Rede.

Eine genaue Feststellung der Mengen, in denen die drei Typen vorhanden waren, versprach wenig Erfolg und hätte sicher nicht die Mühe gelohnt, einige allgemeine Eindrücke und leicht feststellbare Tatsachen in dieser Beziehung müssen aber als bedeutungsvoll, wenn auch vorläufig deutungslos, hier verzeichnet werden. Im allgemeinen überwogen die C-Tiere weitaus über die anderen. Eigentümlich war das Verhältnis von A und B. Da ich an verschiedenen Tagen innerhalb der Zeit, wo ich die Kultur besaß, konservierte, verfüge ich über Gesellschaften auf offenbar sehr verschiedenen Lebenszuständen. Während in den meisten Präparaten die B-Tiere als Seltenheit gegenüber den A gelten mußten, und manchmal sogar fehlten, verfüge ich über eine Serie von Präparaten, in denen es nur C und B gab, kein einziges A war zu finden. Für einen etwas anderen Zustand der Kulturen in diesem letzteren Stadium spricht der Umstand, daß die C die übliche Umrollung der Ränder nicht aufwiesen und daher sehr breit und gedrungen aussahen. Die Vermutung, daß es sich um Wachstums- oder Fortpflanzungsvorgänge als Grund dieser Erscheinung handle, kann ich eben nur hinstellen. Es können auch pathologische Störungen mitspielen, welche die A vernichtet hätten, denn ich beobachtete vor allem bei vielen C in diesen Präparaten eine Unordnung in der sonst so streng in Ordnung gehaltenen Reihe der Müller'schen Blasen, Andeutungen von zwei Reihen oder selbst ganz regellose Verteilung, wenigstens im mittleren oder hinteren Bereich. Aber diese Annahme kann die auffallende Häufigkeit der B in diesen Kulturepochen kaum erklären.

Sobald es einmal für mich feststand, daß drei scharf charakterisierte Typen existieren, erwachte selbstverständlich auch das Bedürfnis in mir, Übergänge zwischen denselben nachzuweisen, wenn ich überhaupt an der Arteinheit der als *Loxodes rostrum* bisher bezeichneten Organismen festhalten wollte. Tatsächlich ist mir aber eine solche Feststellung nur bezüglich A und B, und auch da nur

Tabelle I.

(Die Maßzahlen der Länge und Breite auf 5 abgerundet.)

Typus A.

Nr.	Länge	Breite	MÜLLER'sche Vakuolen
1	190	70	8
2	180	55	5
3	180	70	7
4	155	40	3
5	190	80	6
6	140	55	4
7	190	60	4
8	175	70	5
9	195	55	6
10	195	55	8
11	200	50	6
12	170	60	4
13	155	50	4
14	210	60	5
15	200	55	6
16	180	60	6
17	190	60	5
18	170	55	6
19	220	60	6
20	170	45	4
21	155	60	4
22	160	50	4
23	155	50	4
24	155	55	4
25	160	50	?
26	185	70	5
27	150	65	4
28	165	60	4
29	170	60	6
30	145	50	3
31	150	50	
32	190	?	
33	125	65	
34	160	50	
35	210	60	
36	185	70	
37	175	55	
38	170	60	
39	145	60	
40	200	65	
41	160	50	
42	165	50	
43	175	60	
44	160	60	
45	185	?	
46	205	55	
47	160	45	
48	140	55	

Tabelle II.

Typus B.

Nr.	Länge	Breite	Müller'sche Vakuolen
1	190	55	7
2	235	40	6
3	185	40	4
4	170	40	5
5	140	30	7
6	170	50	5
7	170	40	5
8	160	35	4
9	160	40	6
10	175	50	4
11	160	40	6
12	170	40	5
13	125	35	5
14	165	35	4
15	175	45	5
16	155	50	4
17	165	45	7
18	155	45	5
19	170	50	5
20	145	40	2
21	145	40	5
22	155	35	4
23	145	40	2
24	130	45	5
25	120	30	4
26	160	50	6
27	100	40	5
28	150	45	4
29	100	40	3
30	190	40	
31	160	40	
32	160	40	
33	175	40	
34	185	50	
35	185	40	
36	190	40	
37	130	40	
38	130	35	
39	130	35	
40	160	50	
41	185	50	
42	180	45	
43	160	40	
44	140	45	
45	150	35	
46	185	35	

Tabelle III.
Typus C.

Nr.	Länge	Breite	Müller'sche Vakuolen	Makronuklei	Mikronuklei	Anmerkung
1	280	85	12	13	11	
2	315	100	18	20	16	
3	355	85	19	19	14	
4	330	95	18	19	20	
5	255	85	12	15	10	
6	380	85	20	19	12	
7	280	80	14	13	8	
8	325	95	14	15	13	
9	305	100	13	16	11	
10	280	105	13	15	12	
11	315	110	23	20	17	
12	320	70	17	20	13	
13	345	105	23	19	17	
14	255	80	11	15	10	
15	275	90	12	12	10	
16	200	70	9	8	6	
17	242	55	11	10	9	
18	150	50	11	10	7	
19	270	95	17	14	11	
20	250	90	15	14	10	
21	210	90	15	16	10	
22	210	90	12	13	8	
23	250	55	15	14	9	
24	320	80	20	21	15	
25	280	70	11	14	10	
26	350	95	20	17	18	Figur 1
27	250	80	9	13	6	
28	380	110	17	19	16	
29	190	50	10	10	11	
30	175	50	9	12	7	
31	180	75	9	26	23	
32	350	90	20	19	15	
33	280	95	17	22	16	
34	220	70	14	14	12	
35	310	90	15	15	14	
36	200	80	13	15	10	
37	390	105	20	21	16	
38	220	75	12	17	15	
39	230	80	12	15	11	
40	300	90	19	21	20	
41	260	75	16	16	10	
42	375	75	18	18	9	
43	275	?	15	16	16	
44	185	85	12	15	8	
45	250	95	18	20	17	
46	150	95	11	13	10	
47	300	105	15	17	11	
48	195	95	20	19	16	
49				7	5	} defekte
50				3	3	} Exempl.?
51	145	55	8	9	7	
52	200	95	13	16	15	

so mangelhaft geglückt, daß es mir auch heute noch als nicht widersinnig erscheint, die betreffenden Typen als eigene Rassen oder sogar Arten anzusehen, wenn ich auch für meine Person der einheitlichen Artauffassung auf Grund mehrfacher Indizien zuneige. Ein solches ist das gemeinsame Vorkommen aller Typen, das von vielen Autoren in übereinstimmender Weise geschildert wird.

Es muß als ausgemacht gelten, daß im Typus C eine Vermehrung der Kerne vorkommt, die großen Differenzen in der Kernzahl der einzelnen Individuen drängen zu dieser Annahme. Indessen konnte ich niemals in einem C-Individuum etwas finden, was wie ein Vermehrungszustand der Großkerne aussah. Gründe hierfür kann ich nicht angeben. Wenn nun schon dieser sicher sich abspielende Vorgang in den vielkernigen Individuen sich der Beobachtung entzieht, um wie viel weniger Aussicht haben wir dann, denselben in den wenigkernigen Formen aufzufinden! Andererseits aber ist folgendes zu bedenken. So ungewöhnlich es klingen mag, ist doch die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß eine direkte Vermehrung der Großkerne durch Teilung gar nicht stattfindet, sondern daß die Vermehrungsvorgänge auf die Kleinkerne beschränkt sind, von denen sich dann ein Teil in Großkerne umwandeln kann. Wir finden diesen Vorgang vermutungsweise und mit Reserve bei Bütschli (2) angenommen und ich glaube einige wesentliche Punkte zur Unterstützung beibringen zu können. Nun ist es ganz begreiflich, daß man an den winzigen Mikronuklei die mit der Vermehrung einhergehenden Veränderungen übersehen oder mißdeuten kann. Ich hatte schon Gelegenheit, auf die eingeschnürten Mikronuklei, die man gelegentlich beobachten kann, hinzuweisen, so die zwei hintersten in Fig. 1. Vielleicht sind dies Teilungszustände. Bedenkt man, daß in diesem Tier die Kleinkerne an Zahl die Großkerne übertreffen (auf die mutmaßlichen Gründe kommen wir noch zurück) so wäre es denkbar, daß hier eine Kleinkernvermehrung eintritt, deren Endeffekt der ist, daß eine Anzahl der neuen Kleinkerne sich in Großkerne umwandelt und auf diese Weise das Gleichgewicht wieder hergestellt wird. Solche Beobachtungen, die sich auf Schwankungen der relativen Kernanzahlen beziehen, werden natürlich im Typus C infolge der Inkonstanz der normalen Verhältnisse nur schwer und selten zu machen sein, hingegen werden die Typen A und B bei jeder Abweichung von der normalen Kernzahl (und meist nur an den Kleinkernen konnte ich solches beobachten) unsere Aufmerksamkeit sofort fesseln und die Konstruktion eines genetischen Zusammenhanges der einzelnen

Formen provozieren. Deshalb wollen wir nns nunmehr den von mir beobachteten nnd abgebildeten Abweichungen vom Typus A und B znwenden, von denen ich die meisten in mehreren Exemplaren finden konnte, wenn sie auch im ganzen selten vorkommen.

Ich beginne mit dem Tier, das in Fig. 7 dargestellt ist. Nach seiner ganzen Beschaffenheit gehört es dem Typns A an, von dem es sich nur dadurch unterscheidet, daß es statt eines zwei Mikronuklei hat, die sich symmetrisch zwischen den beiden Makronuklei und ganz entsprechend der Lagerung des einzigen Mikronukleus im normalen Tiere verteilen. Fig. 8 würde ich nach der Plasmabeschaffenheit für ein B gehalten haben, die übrigen Eigenschaften sprechen für A. Doch ist die eigentümliche Dislokation der Kerne bemerkenswert. Es sieht so aus, als ob der vordere Makronukleus samt dem Mikronukleus vom hinteren Makronukleus getrennt und ein wenig verdreht worden wäre. Auffallend ist auch die abnorme große Zahl und Lagerung der Müller'schen Blasen. Fig. 9 war ein ausgesprochener A-Typus mit ähnlicher Kernverlagernng und auffallend großen Makronnklei. Fig. 10: A-Typus mit einem normal gelagerten, aber deutlich zweiteiligen Mikronukleus und einem zweiten, der dem hinteren Makronukleus seitlich anliegt. Fig. 11: Der Größe nach eher dem B-Typus zuzurechnen, doch im Ganzen unbestimmbar, Kernverhältnisse ähnlich deneu in Fig. 8 u. 9, der hintere Makronukleus auffallend groß; der Mikronuklens etwas abgeplattet, doch dem vorderen Makronukleus nicht innig anliegend. Fig. 12 zeigt einen unverkennbaren B-Typus, doch mangelt der hintere Mikronukleus nnd der entsprechende Makronukleus hat vorn und hinten Verdickungen seiner Kugelschale, wodurch er länglich erscheint. Fig. 14 ist insofern sehr bemerkenswert, als nach der Plasmabeschaffenheit sicher A vorliegt. Auch die Makronukleusgröße und die runde Form dsr Mikronuklei, sowie die Art der Berührung zwischen Makro- und Mikronuklei sprechen für A, für B jedoch die Zweizahl der Mikronuklei und die Gruppeubildung der vier Kerne. Doch ist die Distanz der beiden Gruppen eine vom Typns B deutlich verschiedene.

Das ist das ganze Material, das ich an mutmaßlichen Übergangsbildern zwischen A und B anführen kann. Es ist schwer, sich hieraus ein Bild zu machen. Hält man daran fest, daß die kernärmeren Tiere die jüngeren sind, und sich zu den kernreicheren erst entwickeln, so müßte man den A-Typus als den jüngsten der hier geschilderten annehmen und könnte etwa folgendermaßen konstruieren: Der Mikronukleus von A teilt sich (Fig. 7) die Teilstücke

rücken auseinander (Fig. 10, was bedeutet aber die Zweiteiligkeit des einen Mikronukleus?), es bilden sich 2 Makro-Mikronukleusgruppen (Fig. 14) und dann geht es hinüber zum Typus B (Fig. 6). Dieser Annahme stehen gewichtige Bedenken gegenüber. Nach seiner Gesamtorganisation macht A den Eindruck des weiter entwickelten, trotz der geringeren Kernzahl. Seine Größe ist bedeutender, sein Plasma dunkel (beides Annäherungen an C) die Makronuklei deutlich größer, die Müller'schen Blasen zahlreicher. Ich bin versucht, die Sache umgekehrt aufzufassen und A aus B herzuleiten. Wir müßten denn einen Verschmelzungsvorgang der beiden Kleinkerne von B annehmen, ein Vorgang, der freilich sehr ungewöhnlich wäre, aber wie ich glaube, bei Berücksichtigung aller Umstände die größere Wahrscheinlichkeit für sich hat. Ob die geringere Größe der B-Kerne, sowie die Form und innige Anschmiegung der Mikronuklei an die Makronuklei, die bei A nie, bei C nur selten gefunden wird, auch als jugendlicher Charakter zu betrachten sei, will ich dahingestellt sein lassen. In welchem Sinne eventuell die Fig. 8, 9, 11 und 12 zu deuten wären, muß ich offen lassen und mich auf die Registrierung der Befunde beschränken.

Bütschli's Beobachtungen gehen in gewissem Sinne über das von mir Mitgeteilte hinaus. Er behauptet, Individuen mit je einem Großkern und einem Kleinkern gesehen zu haben, die aus den Teilungen von Zweikernigen (d. h. mit zwei Großkernen versehenen = Typus B) hervorgehen; dann solche mit einem Großkern und zwei dicht daneben liegenden Kleinkernen und endlich solche, die nach seiner Beschreibung unserem Typus A entsprechen, mit zwei Großkernen und einem Kleinkern. Er faßt dies als eine Entwicklungsreihe auf, deren Endglied der Typus A ist, nachdem sich der eine der beiden Mikronuklei des zweiten Stadiums in einen Makronukleus umgewandelt hat; er beruft sich hierbei auf die häufig zu beobachtende Tatsache, daß der eine der Makronuklei des Typus A etwas kleiner ist, als normal, was er, wenn ich ihn recht verstehe, als ein Zeichen der noch nicht abgeschlossenen Differenzierung auffaßt. Ich habe bei meinen sehr ausgedehnten Untersuchungen an gefärbten und daher mühelos zu durchmusternden Tieren auch nicht ein einziges Mal ein Tier mit bloß einem Makronukleus und einem Mikronukleus, ebensowenig eines mit einem Makronukleus und zwei Mikronuklei gesehen; es ist mir also unmöglich, zu Bütschli's Beobachtung Stellung zu nehmen. Das eine möchte ich jedoch nicht verhehlen, daß nach meinen freilich spärlichen Beobachtungen aus der Teilung von B-Individuen möglicherweise Tiere mit bloß einem

Makro- und zwei Mikronuklei hervorgehen, wodurch BÜTSCHLI's Angaben wenigstens in einem Punkte, wenn auch in anderer als der von ihm beschriebenen Weise bestätigt würden.

Die geringste Kernanzahl fand ich, wie gesagt, im Typus A. Ein einziger mir unerklärlicher Ausnahmefall sei hier verzeichnet. Fig. 13 zeigt ein Tier, in welchem ich trotz aller Mühe nichts als einen einzigen ganz besonders großen Makronucleus auffinden konnte (den größten, den ich überhaupt gesehen Fig. 29!), von einem Mikronukleus keine Spur. Es wäre unnütz, über diese vereinzelte Erscheinung viele Worte zu verlieren.

Konnten wir bei der Prüfung der Typen A und B auf eventuelle Übergänge ein paar tatsächliche Befunde anführen, die uns freilich vor zwei Alternativen in der Deutung stellten, so ist natürlich für die Herleitung des Typus C aus einer der kernarmen Formen die Aussicht eine umso schwächere. Ich habe mich eifrig bemüht, C-Tiere mit möglichst geringer Kernzahl zu finden, unter 8 Makronuklei und 6 Mikronuklei kam ich jedoch nicht, da ich die von mir erwähnten höchst zweifelhaften Fälle von 7 Ma + 5 Mi, und 3 Ma + 3 Mi, von denen übrigens nur der letztere von prinzipieller Bedeutung wäre, nicht heranziehen will. So müssen wir uns auch hier ohne wesentliches Ergebnis zufrieden geben.

Noch eine kurze Bemerkung: Die unklaren Verhältnisse zwischen den Typen, vor allem zwischen A und B könnten vielleicht erschöpfend durchschaut werden, wenn man nur etwas über geschlechtliche Vorgänge bei *Loxodes* wüßte. Es ist mir im hohen Grade wahrscheinlich, daß es ein Konjugationsvorgang ist, der die Vermittlung zwischen beiden Typen herstellt, er dürfte genau so wie die übrigen Verhältnisse des Tieres, seine Besonderheiten haben, und die von uns geschilderten Zustände könnten sich in seinen Ablauf einreihen lassen. Trotz eifrigen Suchens zu den verschiedensten Stunden des Tages ist es mir aber ebensowenig wie anderen gelungen, ein Konjugationsstadium zu finden.

In bezug auf die Teilungsvorgänge ist es mir gelungen, einige neue Tatsachen festzustellen, welche freilich unsere mangelhafte Kenntnis nicht vollkommen ergänzen können. Über die Teilung finden wir bei BÜTSCHLI folgende Angaben: Sie kann auf jeder Größenstufe eintreten, eine irgendwie geartete Veränderung der Kerne tritt nicht ein. Die Nuklei und Nukleoli (= Mikronuklei) werden zur Hälfte auf jedes Tier verteilt. Daß dies nicht ganz streng geschieht, geht schon aus seiner Abbildung in BRONN's Klassen und Ordnungen hervor. Was BÜTSCHLI über die Teilung des Typus

B sagt, habe ich oben bereits erwähnt. Bei Balbiani finden wir auch eine Teilung letzterer Art, sowie eine eines vielkernigen Individuums abgebildet. Er bestätigt auch im Texte Bütschli's diesbezügliche Angabe und erwähnt ferner die ungleiche Verteilung der Makronukleuszahl bei C-Teilungen (z. B. 15 + 13). Auch daß die Müller'schen Blasen ungleich verteilt werden, erwähnt er.

Trotz meiner geradezu zahllosen Exemplare von *Loxodes* verfüge ich nur über eine recht geringe Zahl von Teilungszuständen, die ich teils in den Massenpräparaten beim Studium derselben vorfand, teils lebend erhielt. Besonderen Dank schulde ich diesbezüglich meinem Kollegen Herrn R. Czwiklitzer, Assistenten am II. Zoolog. Institut, der bei seinen zu anderen Zwecken unternommenen Untersuchungen hie und da Teilungen fand und mir dieselben überließ.

Ich möchte mich bezüglich der am Zellkörper sich abspielenden Vorgänge Balbiani anschließen, der entgegen R. Hertwig's Anschauung das Cytostom des hinteren Tieres als selbständige Bildung und nicht als Ausstülpung des ursprünglichen entstehen läßt. Die Müller'schen Blasen fallen insofern auf, als sie schon auf früheren Stadien in zwei Reihen zerfallen, entsprechend jedem Tochtertier und gleich anfangs auch im hinteren Tiere jene dichtere Lagerung der ersten Glieder der Reihe bemerklich wird, wie wir sie als charakteristisch für das Vorderende kennen (Fig. 16, auch Fig. 17). Ich fand Teilungen nur von den Typen B und C, womit nicht gesagt sein soll, daß sie bei A fehlen.

In Fig. 16 habe ich ein Teilungsstadium des Typus C abgebildet, das uns einige wesentliche Umstände dieses Vorganges erläutern soll. Eine Zählung ergibt, daß im vorderen Tiere 8 Müller-sche Vakuolen, im hinteren 7 enthalten sind. Der Peristom des Hintertieres ist deutlich angelegt, die Grenze der beiden Individuen durch eine tiefe Furche bereits scharf bezeichnet. Bezüglich der Kerne läßt sich folgendes feststellen: Das Vorderstück enthält 14 Makronuklei und 14 Mikronuklei, das Hinterstück 10 Makronuklei und 14 Mikronuklei, also ein Überwiegen der Mikronuklei an Zahl, wie wir es normalerweise niemals feststellen konnten. Dabei fällt noch auf, daß im hinteren Stücke sich 4 Mikronuklei befinden, welche ungewöhnliche Strukturabweichungen von der Norm zeigen; durch die rechts beigesetzten Buchstaben a, b und c sind die betreffenden Stellen markiert, und außerdem bei starker Vergrößerung in den Figuren 26, 27 und 28 wiedergegeben. In Fig. 27 fallen zwei Gebilde sofort in die Augen durch die im Vergleich zum normalen Mikronukleus beträchtliche Größe und Struktur. Der kleinere

der beiden Körper hat eine ziemlich dichtnetzige Struktur, der größere, der auch von hellerer Beschaffenheit ist, entbehrt einer scharfen Abgrenzung und löst sich in eine große Anzahl kleiner, stark färbbarer Kügelchen oder Strichelchen auf. In Fig. 28 sehen wir gleichfalls eine netzig streifige Struktur und eine Art Nierenform des Umrisses. Auch in Fig. 26 hat ein Gebilde, das ich als Mikronukleus anspreche, eine netzig granuläre Struktur, ist jedoch durch seine Größe von den normalen Mikronuklei weniger verschieden, auf den in einiger Entfernung darum herumlaufenden Kontur komme ich zurück. Es liegt sehr nahe, in diesen merkwürdigen Strukturbildern karyokinesenähnliche Vorgänge zu erblicken, eine Annahme, die mit der offensichtlichen Mikronukleusvermehrung in guter Übereinstimmung steht. Wir hätten uns also das Verhalten der Kerne bei der Teilung so vorzustellen, daß entsprechend den älteren Angaben, die Makronuklei mehr oder weniger gleichmäßig auf beide Hälften verteilt würden, daß aber unterdessen die Mikronuklei auf karyokinetischem Wege sich vermehrend, in die Überzahl gelangen. Das Folgerichtige ist dann, daß zur Herbeiführung normaler Zustände sich eine gewisse Anzahl von Mikronuklei in Makronuklei verwandelt, womit wir auf dem schon längst von Bütschli als wahrscheinlich angenommenen Vorgang zurückkommen. Es fragt sich nur, ob man für diese letzteren Annahmen Anhaltspunkte finden kann. Aus der Fig. 16 ist mit Wahrscheinlichkeit zu entnehmen, daß die frisch aus der Teilung kommenden Individuen ein numerisches Überwiegen der Mikronuklei zeigen werden; ich habe zwei Fälle im Text erwähnt, und einen abgebildet (Fig. 1), wo die Differenz zugunsten der Mikronuklei 1 beträgt. Möglicherweise handelt es sich hier wirklich um frisch geteilte Tiere. Auch Fig. 3 mit 16 Makro- und 16 Mikronuklei gehört vielleicht hierher. Für die Umwandlung von Mikronuklei in Makronuklei sprechen einige Strukturbefunde an den Kernen, die ich in auffallender Häufigkeit gerade in solchen Tieren feststellen konnte, die sich durch die gegen die Norm vergrößerte Mikronukleuszahl auszeichneten. In Fig. 3 sehen wir vor allem zwei Makronuklei (a und b), die sich durch geringere Größe, Fehlen des hellen Spaltraumes, excentrischen Binnenkörper und durch das Vorhandensein einer Anzahl kleinerer Binnenkörper vom normalen Makronukleusbau entfernen. In Fig. 22 (von einem Individuum mit 10 Makro- und 11 Mikronuklei) ist ein ähnlicher Kern zu sehen, der nach außen von dem excentrischen Binnenkörper eine halbmondförmige Vakuole besitzt, vielleicht der Beginn des ringsum greifenden Spalt-

ranmes. In dem Hinterteil der Fig. 16 sind zwei Mikronnklei, einer davon vergrößert in Fig. 26, die von einem eigentümlichen abstehenden Kontur umkreist werden. In Fig. 38 u. 39 sind ähnliche Bilder wie die zuerst erwähnten (aus Schnitten) wiedergegeben. Man muß zngeben, daß es nahe liegt, mit Rücksicht auf das Vorkommen in Tieren, die der vollzogenen Teilnng verdächtig sind, in diesen Bildern Übergangsstadien von Mikro- zu Makronuklens zu sehen. Was das Vorkommen solcher Zustände in Tieren, die eine Teilnng nicht annehmen lassen, betrifft, so ist es ein seltenes nnd zeigt anch dann gewisse Abweichungen von der obigen Schilderung. Ein solches Tier enthielt 14 Makro- und 10 Mikronuklei. Nicht weniger als 4 von diesen Makronuklei zeigten das in Fig. 30, 31 und 32 dargestellte Verhalten. Der in Fig. 33 ist fast normal. Mit Ausnahme von Fig. 32 zeigen aber die Kerne in ihrer Struktur andere Erscheinnngen als die oben beschriebenen. Die Größe ist normal, hingegen ist der eine oder die wenigen Binnenkörper auffallend klein, von hellen Höfen nmgeben. Man darf in diesem vereinzelten Falle an eine Störung denken, und eine Analogie mit den mutmaßlichen Umwandlungserscheinungen ausschließen.

Wann die mit der Teilung verbundene Mikronukleusvermehrung einsetzt nnd aufhört, resp. ob diese Vorgänge an gewisse Termine gebnnden sind, konnte ich an meinem spärlichen Teilungsmaterial nicht feststellen. Bei einem Tiere, das mir durch die schwache Andeutung einer mittleren Einschnürung als sich zur Teilung anschickend erschien, war das Kernverhältnis 18 Ma : 13 Mi, also noch ein normales, ja die Mikronuklei im Vergleich znm Mittel gering an Zahl, eine Abgrenzung der Kerne nach den beiden Individnen war hier nicht möglich, vielleicht gehört das Exemplar überhanpt nicht hierher. Bei einem anderen Tiere, das etwas weniger weit in der Teilung fortgeschritten war, als Fig. 16, fand ich

vorne: Müller'sche Blasen 15, Makronuklei 8, Mikronuklei 10
hinten: „ „ 8, „ 7, „ 9,

bei einem dritten in jeder Teilhälfte 10 Makro- und 11 Mikronuklei.

In Fig. 17 habe ich einen Teilungsvorgang abgebildet, der sich zweifellos an einem B-Individuum abspielt. Wir sehen, daß hier der Mikronuklens jeder Gruppe sich verdoppelt nnd seine spezifische Lage anfgegeben hat. Fig. 15 u. 18 sind vielleicht vorbereitende Stadien, mit schon erfolgter Verdoppelung eines der beiden Mikronuklei; in Fig 15. haben die Teilprodnkte des hinteren Mikronukleus noch die spezifische Lage und lassen aus dieser und aus ihrer Form anf ihre Herkunft schließen. Die getrennten Tochtertiere aus solchen

Znständen sind mir leider nicht zu Gesicht gekommen. Hier könnte Bütschli's Schilderung, die ich anf S. 362 zitierte, einsetzen, wenn auch mit der Modifikation, daß das Tochtertier neben seinem Makronukleus bereits zwei Mikronuklei besitzt. Daß ich trotz dieser Wahrscheinlichkeit meine Vermutnng von dem genetischen Zusammenhang von A und B, die ich im Gegensatz zu Bütschli bei gleicher Gelegenheit äußerte, vorläufig aufrecht erhalte, hat seinen Grund in meinen mitgeteilten Beobachtnngen über Kernverhältnisse von A und B, sowie über deren sonstigen Bau. Wenn meine Vermutung von der Einschaltnng eines sexuellen Prozesses sich als richtig erweisen sollte, so wäre vielleicht das von uns beiden beigebrachte Material zur Ergänzung des Gesamtvorganges zu verwenden.

Schließlich will ich noch einmal darauf hinweisen, daß mein Snchen nach Konjugationszuständen ein ganz vergebliches war, daß ich auch, als ich das Abnehmen meiner Kultur bemerkte, eifrig, doch ohne Erfolg alles auf Cysten untersuchte, und daß ich anch von multipler Vermehrung, die ich eine Zeitlang für wahrscheinlich hielt, keine Spur entdecken konnte.

Am Schlusse meiner Ausführungen angelangt, muß ich gestehen, daß es nur ein paar bestätigende Angaben nnd wenige neue Befunde sind, die ich beibringen konnte, und daß meine Deutungen weder einheitlich, noch widerspruchslos, noch erschöpfend sein konnten. Eines steht aber auf Grund der bereits vorliegenden, unzweifelhaften Tatsachen fest, daß wir in *Loxodes* einen von dem üblichen Ciliatentypus in mehrfacher fundamentaler Beziehung abweichenden Organismns vor uns haben, der sich vor allem bezüglich seiner Kernverhältnisse unserem Schema nicht einfügen läßt und dessen Geschlechtsvorgänge, von denen wir ja gar keine Vorstellung haben, noch mancherlei Überraschendes enthalten werden. Eben das aber muß ein Reiz sein, der Biologie dieses Tieres möglichst gründlich nachzuspüren, denn gerade die Erscheinungen, die unseren bisherigen Kenntnissen und Vorstellnngen widersprechen, sind der Ansgangspunkt für neue Erkenntnis, wenigstens insolange, als der Satz: „Ausnahmeu bestätigen die Regel" aus dem gewöhnlichen Sprachgebranch den Weg in den Prinzipienkodex der Naturforschung nicht gefnnden hat. Vielleicht habe ich durch meine leider fragmentarischen Ergebnisse, wie mir, so auch anderen, denen der Zufall das offenbar nicht häufige Material von *Loxodes rostrum* in die Hände spielt, Anlaß zu erneuten Bemühnngen in dieser Frage gegeben.

Literaturverzeichnis.

(Die ältere und von mir nicht zitierte Literatur findet sich bei Balbiani und Bütschli.)

1) Balbiani, E. G.: Étude sur le Loxode. Ann. de Micrographie etc. Vol. 2 1889—90.

2) Bütschli, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation der Infusorien. Abh. d. Senckenbergschen Naturf.-Gesellschaft in Frankfurt Vol. X 1876.

3) Derselbe: Protozoa. III. Abt. Ciliata. in: Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches Vol. I 1887—1889.

4) Claparède et Lachmann, E.: Études sur les Infusoires et Rhizopodes 1858—1859.

5) Engelmann, W.: Zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. wiss. Zool. Vol. XI 1862.

6) Perty: Zur Kenntnis der kleinsten Lebensformen 1852 (mir nicht zugänglich).

7) Stokes, A. C.: Some new Hypotrichous Infusoria from American Freshwaters. Ann. and Mag. of Natural History ser. V, Vol. XX 1887.

8) Wrzesniowski: Beobachtungen über Infusorien aus der Umgebung von Warschau Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. XX 1870.

Tafelerklärung.

Die Übersichtsbilder (Fig. 1—18) sind sämtlich bei Anwendung von Zeiss Kompensationsokular 4 und Apochromatobjektiv 4 mm, die Detailbilder der Kerne (Fig. 19—39) bei Kompensationsokular 6 und Apochromativobjektiv hom. Imm. 2 mm Ap. 1,40 mittels des Abbe'schen Zeichenapparates und bei Projektion auf die Stativbasis entworfen.

Die Fig. 1—35 beziehen sich ausschließlich auf Totopräparate, die mit Pikro- oder Boraxkarmin gefärbt waren, Fig. 25 entstammt einem frischen Präparate, Fig. 36—39 Schnitten, die mit Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt waren.

In den Totopräparaten bedeuten die kleinen grauen Flecke die Inhaltskörper der Müller'schen Vakuolen, Großkerne und Kleinkerne sind leicht erkennbar.

Fig. 1. Großes Exemplar des Typus C mit 17 Großkernen und 19 Kleinkernen (die zwei hintersten Kleinkerne erscheinen wie aus je zwei Stücken zusammengesetzt) und 20 Müller'schen Vakuolen. Reihenanordnung der vordersten 4 Makro- und 3 Mikronuklei.

Fig. 2. Etwas kleineres Exemplar des Typus C mit 18 Großkernen, 9 Kleinkernen und 18 Müller'schen Vakuolen. Auffallend ist, daß im hinteren Bereiche des Tieres bloß ein Mikronukleus sich findet.

Fig. 3. Typus C mit 16 Makro-, 16 Mikronuklei und 15 Müller'schen Vakuolen. Einige Makronuklei enthalten außer dem Hauptbinnenkörper noch eine Anzahl kleinerer, ersterer ist meist excentrisch gelagert. Reihung der vordersten 6 Makro- und 6 Mikronuklei.

Fig. 4. Typus A normales Exemplar. 5 Müller'sche Vakuolen.

Fig. 5. Typus C kleines Exemplar mit 10 Makro-, 8 Mikronuklei und 6 Müller'schen Vakuolen.

Fig. 6. Typus B normales Exemplar. 4 Müller'sche Vakuolen.

Fig. 7. Exemplar des Typus A, atypisch mit 2 nahe beieinander liegenden Mikronuklei in ungefähr normaler Lage. 6 Müller'sche Vakuolen.

Fig. 8. Das Tier gehörte seiner Plasmabeschaffenheit nach dem Typus B an, hatte jedoch die Kernzahl von A, große Makronuklei, wie bei A, jedoch atypisch gelagert. 9 Müller'sche Vakuolen, auch teilweise unregelmäßig gelagert.

Fig. 9. A-Typus, Kerne ähnlich wie in Fig. 8, 5 Vakuolen.

Fig. 10. A-Typus. Ein Mikronukleus (zweiteilig in normaler Lage) ein zweiter abseits. 5 Vakuolen, eine davon verlagert.

Fig. 11. Unbestimmbarer Typus. Ein auffallend großer Makronukleus. 2 Vakuolen.

Fig. 12. Typus B. Der hintere Mikronukleus fehlt. Der Ring des hinteren Makronukleus an 2 Stellen auffallend verdickt. 2 Vakuolen.

Fig. 13. Der Plasmabeschaffenheit nach Typus A. Nichts als ein einziger außerordentlich großer Makronukleus nachzuweisen. 4 Vakuolen. (Vgl. Fig. 29.)

Fig. 14. Der Plasmabeschaffenheit nach Typus A. Kernanzahl wie bei B, jedoch die beiden Mikro-Makronukleusgruppen einander sehr genähert, Makronuklei größer als bei B, Mikronuklei rund. 4 Vakuolen.

Fig. 15. Typus B der hintere Mikronukleus verdoppelt. 2 Vakuolen.

Fig. 16. Teilungsstadium des Typus C. Vorderes Teilstück: 14 Makronuklei, 14 Mikronuklei, 8 Vakuolen. Hinteres Teilstück: 10 Makronuklei, 14 Mikronuklei, 7 Vakuolen. (Vgl. die Fig. 26—28.)

Fig. 17. Teilungsstadium des Typus B. Mikronuklei in jedem Teilstück auf 2 vermehrt.

Fig. 18. Typus B, vielleicht vor der Teilung; hinterer Mikronukleus verdoppelt.

Fig. 19. Kerne eines Exemplars vom Typus A.

Fig. 20. Abnormgebauter Kern eines C-Individuums.

Fig. 21. Ein Mikro- und ein Makronukleus eines C-Individuums. Im Makronukleus fehlt der lichte Raum zwischen Binnenkörper und Ring.

Fig. 22. Zwei Makro- und ein Mikronukleus eines Exemplars, welches 10 Makro- und 11 Mikronuklei besaß, und vermutlich nach der Teilung war.

Fig. 23—24. Zwei Makro-Mikronukleusgruppen von 2 verschiedenen B-Individuen.

Fig. 25. Frischer Großkern, zerquetscht. Membran deutlich.

Fig. 26—28. Kerne aus dem Teilungsstadium der Fig. 16, entsprechend den Stellen a, b und c. Karyokinesenähnliche Zustände der Mikronuklei.

Fig. 29. Kern von Fig. 13.

Fig. 30—33. 4 Kerngruppen aus einem großen C-Individuum mit 14 Makro- und 10 Mikronuklei. Verschiedene nicht gewöhnliche Makronukleusstrukturen.

Fig. 34—35. 2 Kerngruppen aus einem großen C-Individuum mit 18 Makro- und 12 Mikronuklei. Verschiedene Formen der Mikronuklei. In Fig. 34 ein Makronukleus von ungewöhnlicher Struktur. In Fig. 35 unten ein Binnenkörper einer Müller'schen Vakuole.

Fig. 36. Mikro-Makronukleusgruppe aus einem Schnitt.

Fig. 37. Makronukleus aus einem Schnitt. Kein heller Zwischenraum, deutlich gefärbte Membran.

Fig. 38—39. Je ein Mikro- und Makronukleus, letztere von nicht gewöhnlicher Struktur, aus Schnitten.

Recherches sur le cycle évolutif des Selenidiidae, Grégarines parasites d'Annélides polychètes.

I. La schizogonie et la croissance des gamétocytes chez Selenidium caulleryi n. sp.

Par
Louis Brasil (Caen).

(Avec la Planche XV.)

J'appelle *Selenidium caulleryi* un *Selenidium* parasite de *Protula tubularia* (Mont) si abondant parfois, qu'il n'est pas d'individu du Serpulien de la côte du Calvados dont le tube digestif n'en contienne un grand nombre.

Dans cette note consacrée surtout à l'étude de la reproduction agame de ce *Selenidium*, les sporocystes ne seront pas décrits. Et l'on me reprochera peut-être alors de m'être affranchi de cette règle, de cette tradition plutôt, qui veut que ne soient déterminées spécifiquement que seules les Grégarines dont le sporocyste est connu. Mais cette règle, je la trouve moi-même fort recommandable, en lui apportant toutefois les tempéraments nécessaires.. Je reconnais très volontiers que les caractères des sporocystes, en général plus tranchés que ceux des formes végétatives, fournissent le plus souvent pour la systématique les seules bases vraiment solides. Le plus souvent, car il y a des exceptions. Les *Monocystis* des Lumbriciens sont là pour le démontrer. D'une façon moins exclusive, une Grégarine peut être déterminée spécifiquement quand elle présente en un point *quelconque* de son cycle évolutif des caractères structuraux qui la différencient nettement des espèces déjà décrites. Ainsi, pour nous en tenir aux Grégarines qui sont étudiées dans cette note, voici un

Selenidium que nous ont fait connaître Caullery et Mesnil, qui doit à la présence d'un gros myonème unique d'avoir des sections transversales en forme de T. Ce caractère qu'il est jusqu'ici seul à présenter ne suffit-il pas pour le distinguer de ses congénères? Et cet autre que les mêmes auteurs désignent par l'expression maintenant passée dans la littérature protistologique de *Selenidium* „en point et virgule", ne mérite-t-il pas un nom plus régulier? D'ailleurs, remarquons-le, ces expressions de *Selenidium* à un seul myonème, de *Selenidium* „en point et virgule", constituent de véritables déterminations présentant le double inconvénient grave, d'abord de n'être pas conformes aux règles de la nomenclature zoologique, puis de compliquer singulièrement le langage. Qu'on en juge: je vais avoir à mentionner souvent ces deux *Selenidium*, le premier en particulier, et comme l'hôte qui l'héberge, *Scolelepis fuliginosa* donne asile à un autre *Selenidium*, le nom de cet hôte ne suffirait pas à lui seul pour le désigner; il me faudra pour être précis employer chaque fois toute une phrase, le *Selenidium* à un seul gros myonème de *Scolelepis fuliginosa*! Un nom spécifique, on en conviendra serait plus avantageux. Donc, tout en rendant un juste hommage aux scrupules des auteurs qui ne donnent d'état-civil aux Grégarines que sur le vu de leurs sporocystes, je ne crois pas devoir imiter une telle discrétion. Et si les raisons que j'ai données ne suffisent pas, j'ajouterai pour ma défense que je ne suis pas seul à agir ainsi et que je ne fais que suivre l'exemple de protistologues autrement compétents.

On trouvera dans Caullery et Mesnil (1899a) l'analyse des travaux parus avant cette date sur les Grégarines qui doivent être rassemblées dans le genre *Selenidium*. Dans ce paragraphe consacré à l'historique, je ne m'occuperai que des travaux ultérieurs.

Après avoir donné l'amplitude qu'il convient au genre *Selenidium* créé par Giard dès 1884 et montré que *Polyrhabdina* Mingazzini, *Esarhabdina* Mingazzini, *Platycystis* Léger doivent être considérés comme synonymes, Caullery et Mesnil décrivent les premiers stades („céphalins") de deux espèces parasites de *Cirratulus cirratus* (O. F. Müll.), énumèrent divers nouveaux hôtes où des formes libres ont été observées, puis font connaître le kyste et le sporocyste de *Selenidium echinatum* n. sp., forme découverte dans le tube digestif de *Dodecaceria concharum* (Œrst.).

Le mémoire de Caullery et Mesnil est le premier travail de quelque importance publié sur le genre *Selenidium*, je l'analyserai

d'assez près, ayant constamment besoin dans la suite de m'y reporter. Une note préliminaire (1899) avait fait connaître les principales observations des auteurs.

Les premiers stades sont décrits chez deux *Selenidium* qu'à cause de leur forme générale les auteurs désignent par les expressions de *Selenidium* „en virgule" et de *Selenidium* „en point et virgule".

Pour le *Selenidium* „en virgule", il n'a pas été observé de stade intracellulaire. Les petits individus longs de 15 μ sont „déjà" extracellulaires et ne sont en relation avec l'épithélium intestinal de l'hôte que par la fine pointe d'une extrémité, elle-même en forme de cône aigu. Plus tard, la taille ayant dépassé 40 à 50 μ, le parasite est libre, „la pointe du cône qui le mettait en contact avec la cellule-hôte a disparu: elle est donc un véritable épimérite". La partie antérieure est de ce fait tronquée et présente souvent des cannelures. Comme conclusion générale: „le *Selenidium* en virgule est une Grégarine dicystidée à épimérite rudimentaire et caduc".

Le *Selenidium* „en point et virgule" présenterait des stades intracellulaires. Ce sont des corps ronds de 4 à 5 μ de diamètre avec noyau massif, sphérique, compact, de 2 μ de diamètre et fortement colorable. Dans la cellule le parasite s'allonge, le noyau devient vacuolaire, transversal, avec un nucléole à chaque extrémité; puis il fait hernie dans la lumière du tube digestif en prenant une forme de comète ou de cerf-volant; la partie proximale n'est plus alors dans une cellule épithéliale, elle est enclavée entre plusieurs cellules, elle est intercellulaire. Plus tard CAULLERY et MESNIL (1901) reviendront sur ce dernier point en disant: „Contrairement à ce que nous pensions alors, l'épimérite reste intracellulaire."

La région inter- ou intracellulaire se différencie de la région libre; elle constitue le „point", l'autre formant la „virgule". A l'état définitif, le „point" est une sphère de 30 μ de diamètre présentant en avant une dépression où s'observe parfois un petit bouton de cytoplasme plus colorable. La „virgule", qu'aucune membrane ne sépare du point mais dont le cytoplasme demeure cependant indépendant, contient le noyau.

Le parasite libre ne diffère pas du parasite fixé sur l'epithélium: „l'état de céphalin est donc définitif" et les auteurs pensent, avec quelques réserves toutefois, que le „point" constituent un épimérite et insistent alors sur sa grosseur et sa non-caducité.

Suivent des observations plus générales sur l'enkystement des *Selenidium*: chez un même hôte les *Selenidium* s'enkystent, ou tous solitairement, ou tous par couples; pour une même espèce de para-

site, on a tantôt enkystement solitaire, tantôt enkystement par deux. Caullery et Mesnil donnent alors quelques indications sur les phénomènes nucléaires qui précèdent la sporulation; ils y reviendront d'ailleurs d'une façon plus étendue dans un mémoire ultérieur (1900a).

Dans la plupart des cas la sporulation doit s'achever en dehors du tube digestif de l'hôte. Là est sans doute la raison de la rareté des kystes mûrs. Cependant chez *Dodecaceria concharum* (Œrst.), Caullery et Mesnil ont pu l'observer. Rappelons seulement — les faits étant étrangers à l'objet de la présente note — que les sporocystes sont sphériques, qu'ils sont recouverts de fines pointes, d'où le nom de *Selenidium echinatum* donné au parasite de *Dodecaceria*, que chaque sporocyste contient quatre sporozoïtes. J'insisterai par contre sur les passages suivants que je cite textuellement: *Selenidium echinatum* „habite le tube digestif de *Dodecaceria concharum*. Malgré le grand nombre d'individus (quelques centaines) que nous avons eu l'occasion de dilacérer, nous n'avons observé la Grégarine que chez trois . . . . . . Les trois *Dodecaceria* contaminés étaient des formes jeunes d'une vingtaine de sétigères. Les parasites mobiles ou en sporulation étaient toujours en nombre considérable; et même, dans deux cas, les parois du tube digestif étaient extrêmement distendues par eux. Il semble donc que ce *Selenidium* détermine, dans les rares cas où on l'observe, une sorte de maladie aiguë. Il nous a été impossible de rechercher les stades intracellulaires du parasite dans les parois du tube digestif."

Signalons sans nous arrêter — elle ne contient aucun fait nouveau pour les *Selenidium* — une note des mêmes auteurs (1900) sur les parasites des Annélides polychètes, de la Manche en particulier, pour arriver de suite à leur importante publication (1900a) sur la division nucléaire qui précède la sporulation et qui chez *Selenidium* prend des caractères très spéciaux. J'étudierai cette division dans une note qui suivra celle-ci, je la laisserai donc maintenant de côté, je m'occuperai seulement du noyau tel qu'il est avant toute manifestation d'activité reproductrice. Chez le *Selenidium* étudié par Caullery et Mesnil, parasite cette fois de *Spio martinensis* Mesn., c'est une vacuole claire contenant „une sorte d'ellipsoïde concentrique, à contours assez nets, formé de fins granules chromatiques, se colorant d'une façon relativement pâle. L'extrémité dirigée vers la partie antérieure de la Grégarine porte une encoche, en forme de croissant, où est logé un karyosome de 3 μ de diamètre environ, se colorant d'une façon très intense et décomposable en boules ou bâtonnets chromatiques, souvent disposés en couronne. Une zône

claire existe entre le contour nucléaire et le complexe interne que nous venons de décrire. La vacuole nucléaire ne paraît limitée par aucune membrane. S'il en existe une, comme d'ailleurs l'examen à l'état frais semble l'indiquer, elle doit être extrêmement mince". Ce qui précède s'applique aux formes jeunes. „Dans une Grégarine arrivée à la fin de sa période de croissance, les diverses parties que nous venons de décrire existent encore avec les mêmes dispositions, mais elles apparaissent moins nettement. Les limites de la vacuole nucléaire sont parfois très difficiles à voir; cela tient à ce que la partie granuleuse interne occupe maintenant tout le noyau, sauf une zône, à sa partie antérieure, qui reste incolore et au milieu de laquelle apparaît le karyosome bien isolé. Un fait à noter, à cause de son extrême constance, est la présence d'un granule chromatique (ou quelquefois deux) un peu plus gros que les autres, vers le milieu de la partie granuleuse. Quant au karyosome, il est resté semblable à lui-même; il a peut-être un peu grossi (4 μ de diamètre): à ce stade sa structure interne se reconnaît très nettement."

A l'occasion de l'exposition de leurs idées sur les rapports des Grégarines et de l'épithélium intestinal des hôtes qui les hébergent, Caullery et Mesnil (1901) citent successivement: 1° „un *Selenidium* de *Scolelepis fuliginosa* qui croît presque jusqu'à l'état adulte dans les cellules épithéliales de l'intestin, où on le reconnaît facilement par la structure de son noyau et de son protoplasme et ses myonèmes nombreux, puis tombe dans la lumière du tube digestif. Une espèce très voisine, le *Selenidium* de *Spio martinensis*, se comporte de la même façon." 2° „Un *Selenidium* aplati et à un seul gros myonème [1]) (parasite également de *Scolelepis fuliginosa*). Le parasite intracellulaire, d'abord en forme de croissant, prend peu à peu le forme sphérique; en même temps son noyau se multiplie; la sphère se résout en un barillet schématique de 7 à 8 μ de hauteur et composé d'une douzaine d'éléments avec un petit reliquat polaire. Les mérozoïtes ainsi formés se séparent, tombent dans la lumière de l'intestin, s'accolent par leur pointe aux cellules intestinales et croissent en restant extracellulaires .... Cette observation confirme l'existence de la schizogonie intracellulaire dans le groupe des Grégarines."

Caullery et Mesnil terminent en montrant combien est variée l'action du parasite sur la cellule qui le contient ou le supporte. Le *Selenidium* à gros épimérite sphérique de *Cirratulus cirratus* pro-

[1]) D'après les auteurs ce gros myonème s'arrête chez les adultes au milieu de la longueur et donne à la section transversale une forme légèrement en T.

voque l'hypertrophie dn corps cellulaire et du noyau. Les denx *Selenidium* de *Scolelepis fuliginosa* sont sans action dans leurs stades intracellulaires; extracellulaires, l'un semble déterminer tonjonrs l'hypertrophie de la cellule à laqnelle il s'accole, l'autre d'une façon seulement exceptionnelle.

Siedlecki (1903) observe dans l'intestin de *Polymnia nebulosa*. un *Selenidium* qni „se trouve très rarement aussi dans le cœlome de l'Annélide“ où il échappe à la voracité des phagocytes grâce à ses mouvements vigoureux et rapides. La snrface en est creusée de sillons longitudinaux profonds qui donnent à la coupe transversale de la Grégarine la forme d'nne étoile à 7 branches. L'espèce qui est nouvelle est nommée *Selenidium costatum*.

Minchin (1903) place *Selenidium* dans les *Cephalina*, mais dans nne position incertaine. A l'exemple de Léger (1900), Minchin divise l'ensemble des Grégarines en Schizo- et Eugrégarines, les *Cephalina* font naturellement partie de ces dernières.

Caullery et Mesnil (1905) retrouve chez un *Selenidium* habitant l'intestin de *Salmacina dysteri*, la division nucléaire multiple qu'ils ont précédemment décrite et qui paraît être caractéristique du groupe.

Dans ses belles études sur les Annélides des côtes de France, de Saint-Joseph ne manque pas de signaler les parasites rencontrés. Chez plusieurs Annélides, il mentionne (1906) la présence de *Selenidium*.

Comme je l'ai dit au début de cette note, *Selenidium caulleryi* se rencontre dans le tube digestif d'un Serpulien, *Protula tubularia* (Mont.) où il se localise à différents niveaux suivant l'état de son développement. La forme libre, celle que nous considérerons uniqnement maintenant. est extrêmement abondante; on la trouve dans les denx tiers postérieurs de la région dn tnbe digestif correspondant au thorax de l'Annélide et aussi au début de l'intestin abdominal. Chez certains individns, ces régions du tube digestif sont à ce point envahies par le parasite qu'il est possible d'en compter plus d'nne centaine dans une senle section transversale.

Arrivé au terme de sa croissance, *Selenidium caulleryi* est une forme d'aspect variable, mais toujours plutôt trapue. Les dimensions les plus courantes s'éloignent peu des chiffres snivants (Pl. XV fig. 11):

Longuenr	75 μ
Largeur	25 μ.

Mais il est des individus plus effilés qni pour une longueur de 80 à 85 μ n'ont en largeur que 16 à 20 μ (Pl. XV fig. 12).

Les sections transversales sont très sensiblement circulaires. La

Grégarine n'est donc nullement aplatie. Cependant la symétrie du corps ne paraît pas se faire par rapport à un axe, mais par rapport à un plan. *Selenidium caulleryi* est normalement un peu incurvé. La courbure s'effectue parallèlement à un plan, d'où existence pour la Grégarine d'un plan de symétrie bilatérale.

L'extrémité antérieure se termine par une sorte de trompe massive qui peut en partie s'invaginer, s'étirer ou se renfler. Cette trompe est particulièrement volumineuse chez les individus qui viennent de rompre la connexion avec l'épithélium; une sorte de col la sépare du corps et l'on peut voir fréquemment saillir de son sommet une sorte de petit appendice hyalin de forme conique, assez mobile latéralement et très facilement invaginable (Pl. XV fig. 13). Cette sorte de digitation rappelle à la fois le petit bouton de l'épimérite du *Selenidium* „en point et virgule" de Caullery et Mesnil et le corpuscule antérieur amœboïde si bien décrit par Siedlecki (1899, 1901) chez *Lankesteria ascidiae* (Lank).

La région postérieure s'amincit progressivement, mais elle reste souvent assez large. C'est par l'accolement des extrémités postérieures que débute l'accouplement chez *Selenidium caulleryi*, comme d'ailleurs chez les autres espèces du genre où la formation des couples a été observée.

La surface de la Grégarine est parcourue par une vingtaine de sillons longitudinaux qui ne cessent que sur la petite digitation antérieure. Les sillons sont peu profonds, mais présentent sur toute l'étendue de leur parcours une grande netteté. Ils sont également espacés les uns des autres. Leur présence détermine un même nombre de zônes longitudinales saillantes, un peu aplaties, toutes semblables entre elles.

On compte, ai-je dit, une vingtaine de sillons. Dans la presque totalité des cas, il y en a exactement vingt; j'ai cependant rencontré mais très exceptionnellement des individus qui n'en présentaient que dix-neuf, ou bien vingt-et-un ou vingt-deux; mais encore ce sont là des raretés. Ces numérations sont très faciles à faire sur les sections transversales du parasite. C'est d'ailleurs uniquement là qu'elles présentent une certitude suffisante.

Le cytoplasme est granuleux, plus transparent dans la trompe, tout-à-fait hyalin dans l'appendice antérieur.

Le noyau est un gros ovoïde transverse, situé environ à la moitié de la longueur du corps, rejeté plus souvent un peu en arrière qu'en avant. Il est limité par une membrane peu visible.

exactement remplie par la substance nucléaire transparente, légèrement granuleuse et dans laquelle baigne un gros karyosome latéral.

Selenidium caulleryi présente la même sorte de mobilité que ses congénères, seulement ses mouvements sont lents et d'une amplitude relativement faible. Ils consistent principalement en des flexions rythmées de peu d'étendue, exécutées dans le plan de symétrie dont j'ai parlé et seulement, m'a-t-il semblé, du côté du bord le plus court. La Grégarine étant en ce que l'on peut appeler sa position initiale ou d'équilibre, se courbe avec lenteur du côté de ce bord le plus court, la moitié antérieure du corps effectuant à elle seule la presque totalité du déplacement, puis dans le même temps la Grégarine se redresse pour reprendre sa position première et recommencer immédiatement le même mouvement, toujours dans le même sens. A ces mouvements de flexion il faut ajouter de légères déformations affectant sans règle apparente toute l'étendue du corps. La région antérieure, celle que j'ai désignée sous le nom de trompe est la plus mobile. Elle participe aux mouvements de flexion générale, mais en même temps peut s'incliner dans tous les sens, s'étendre, se gonfler, s'invaginer, mais tout cela avec une vitesse bien moins grande que celle que manifeste dans ses mouvements la petite digitation terminale.

L'invagination d'une partie de la trompe tronque l'extrêmité antérieure de la Grégarine; le point de convergence des sillons longitudinaux transporté à l'intérieur du corps devient invisible, les cannelures viennent alors découper le bord de la troncature antérieure et on a sous les yeux l'aspect que Caullery et Mesnil représentent (1899 a, Pl. XV fig. 5) chez leur *Selenidium* „en virgule" de *Cirratulus cirratus* et où ils voient une conséquence de la chûte de l'épimérite.

La forme libre de *Selenidium caulleryi*, la plus facile à observer, étant maintenant suffisamment connue, il me reste à examiner avant de passer à la description d'autres stades, si elle n'appartient pas à l'une des espèces antérieurement décrites. Si l'on doit identifier *Selenidium caulleryi* à l'une de ces dernières, ce ne peut être qu'à un *Selenidium* parasite de *Serpula contortuplicata* décrit autrefois par Ray Lankester (1863) sous le nom de *Gregarina serpulae*. La description très sommaire convient assez bien, précisement peut-être à cause même de sa concision. Les figures d'un dessin un peu rudimentaire, rappellent suffisamment la forme générale de *Selenidium caulleryi*, mais on compte respectivement sur les trois individus adultes représentés seize, dix-neuf et onze stries longitudinales pour une seule face du corps. C'est un nombre très supérieur, sauf pour

l'un, à ce que montre la Grégarine de la Protule. On ne doit sans doute pas, il est vrai, attacher trop d'importance à ce caractère, le dessinateur ayant bien pu lui-même n'en tenir qu'un compte très relatif. Il serait donc suffisamment justifié, ne semble-t-il pas, de rapporter à *Selenidium serpulae* le parasite de la Protule. Et cependant, on le voit, j'ai pris une détermination toute opposée. C'est que concurremment avec celui de la Protule, j'ai suivi d'assez près chez d'autres Serpuliens plusieurs *Selenidium* et j'ai pu constater qu'à des formes mobiles présentant entre elles des ressemblances troublantes correspondent suivant l'hôte des stades souvent très différents. Comparez par exemple entre elles les formes libres des deux *Selenidium* parasitant respectivement *Protula tubularia* (Mont.) et *Pomatoceros triqueter* (L.). Les différences sont à peine sensibles. Elles sont de l'ordre de celles qui séparent les dessins de Lankester des miens. Mais suivez parallèlement l'évolution des deux Grégarines, vous observerez des divergences telles que la distinction des deux parasites s'imposera tout naturellement à vous. Il était donc important de retrouver le *Selenidium* de la Serpule, non seulement pour le comparer dans sa forme adulte avec celui de la Protule, mais aussi pour élucider son évolution. A mon grand regret les nombreuses Serpules examinées dans ce but le furent sans succès. Aucune ne contenait le parasite. Mingazzini (1893) avait été plus heureux, mais il note la rareté de la Grégarine dont il donne d'ailleurs une figure qui s'éloigne singulièrement des représentations originales. Dans ces conditions et jusqu'à plus ample informé, il m'a paru prudent de distinguer les deux formes, convaincu que je suis d'autre part de la spécialisation des parasites d'un hôte déterminé. Et puis il sera toujours bien simple de rayer *Selenidium caulleryi* de la nomenclature le jour où son identité avec *Selenidium serpulae* serait établie d'une façon indubitable.

Lorsqu'on examine un grand nombre de sections transversales intéressant l'intestin thoracique de la Protule, on finit par découvrir çà et là, logées dans la partie profonde de l'épithélium, tout contre la basale, de grosses masses uninucléées, sans forme bien nettement définie et que l'œil exercé distingue de suite des divers éléments épithéliaux dégénérés souvent comparables, pour leur attribuer une nature parasitaire incontestable. Ces masses font partie du cycle évolutif du *Selenidium* dont les formes libres que je viens de décrire grouillent dans la cavité intestinale.

Les plus petits de ces corps qu'il m'a été donné de rencontrer

sont ovoïdes ou presque sphériques (Pl. XV fig. 1). Leur plus grand diamètre n'excède pas 20 μ. Sur les préparations fixées, le cytoplasme est densément et grossièrement granuleux. Il entoure un noyau volumineux, limité par une membrane bien nette et qui contient baignant dans une masse homogène, un gros karyosome sphérique. Entre cette masse homogène et la membrane s'intercale presque constamment une zone claire et transparente dont on constatera la présence à tous les stades du parasite. J'en parle ici une fois pour toutes, pour dire que je n'attache aucune importance structurale à cette zône, déjà signalée dans d'autres travaux par différents auteurs. Elle ne s'observe que sur les préparations ayant subi le contact des diverses substances utilisées en histologie et n'est due qu'à la diminution du volume du contenu nucléaire sous l'action des mélanges fixateurs. J'en ferai donc abstraction dans les descriptions qui vont suivre et je considèrerai toujours comme ramené à ses connexions véritables, le contenu nucléaire. Cela a de l'importance pour l'étude des relations de la chromatine avec la membrane du noyau.

Au stade qui nous occupe en ce moment, le parasite est logé isolément dans une cellule épithéliale sur laquelle du reste sa présence retentit singulièrement. Cette cellule s'élargit dans des proportions considérables, elle perd en même temps le contact de la lumière du tube digestif: elle devient une cellule strictement basale. Son cytoplasme beaucoup plus clair que celui des éléments voisins affecte l'apparence d'un réseau à très larges mailles remplaçant la structure fibrillaire que l'on observe aux alentours. Le noyau subit un commencement d'hypertrophie; on le trouve toujours appliqué contre le parasite sur lequel il se moule. A son intérieur une ou deux petites masses sphériques representent la totalité de la substance chromatique; le reste est occupé par un suc hyalin que divise quelques rares travées granuleuses.

L'évolution d'un parasite tel que celui que je viens de décrire est naturellement déjà quelque peu avancée. Quelles transformations nous ont échappé? Je l'ignore, mais il est facile de les imaginer en se reportant aux exemples connus: le sporocyste mûr absorbé par l'Annélide s'ouvre dans la région antérieure du tube digestif; les sporozoïtes mis en liberté pénètrent immédiatement dans l'épithélium, se logent dans les parties profondes des cellules intestinales et là grossissent peu à peu pour atteindre le volume auquel j'ai observé le parasite. Celui-ci continue à s'accroître, causant de plus en plus la distension de la cellule qui le contient. Son propre cytoplasme

devient moins homogène, il s'y dessine un large réseau de granulations plus chromatiques. Inversement le cytoplasme progressivement plus réduit de la cellule-hôte, augmente en transparence. Quant au noyau de cette cellule, comprimé entre la membrane cellulaire et le parasite, il se dispose en une mince calotte coiffant ce dernier (Pl. XV fig. 2).

A la fin de leur croissance les masses uninucléées atteignent 50 μ dans leur plus grande dimension. Leur forme ovoïde s'est plus ou moins profondément modifiée sous l'action des pressions et de la résistance de l'entourage. C'est quelquefois un gros boudin replié sur lui-même à ses deux extrêmités, mais le plus souvent c'est une masse compacte à contours irréguliers.

Parfois aussi l'accroissement excessif de son contenu fait éclater la cellule-hôte. Le parasite s'installe alors contre la basale dans une sorte de lacune creusée entre les pieds des éléments épithéliaux: il est devenu intercellulaire.

Le parasite uninucléé ayant atteint son complet développement, survient une multiplication intense du noyau. Cette multiplication nucléaire marque le début pour la Grégarine d'une multiplication schizogonique. Le noyau primitif unique est remplacé par un grand nombre de petits noyaux, deux ou trois cents et même davantage (Pl. XV fig. 3). Comment se fait cette transformation? J'ai vu des formes à deux noyaux. J'ai constaté que pour plusieurs individus les dimensions des petits noyaux et leur nombre ne sont pas identiques d'un individu à l'autre. Ces deux remarques donnent à penser que la multiplication nucléaire ne se fait pas en un temps. Dans certains cas aussi, l'aspect des petits noyaux permettait de supposer qu'ils étaient au voisinage d'une division de nature indirecte, mais cela, je me hâte de l'ajouter est bien vague.

Examinons le stade le plus fréquent (Pl. XV fig. 3), celui qui précède la formation des mérozoïtes. La forme générale du schizonte est la même que celle de l'individu uninucléé; elle a souvent la même irrégularité. L'aspect du cytoplasme ne semble pas avoir varié. Les petits noyaux sont tous égaux et sont uniformément répartis dans toute l'étendue de la masse parasitaire: ils ne sont pas seulement localisés à sa surface. Chacun d'eux est une petite sphère claire limitée par une membrane incrustée de grains de chromatine. A diverses reprises, j'ai vu comme annexé à chaque noyau un gros grain chromatique extérieur parfaitement sphérique et de taille uniforme (Pl. XV fig. 5). Sur la nature ou le rôle de

ce grain des hypothèses différentes sont permises; rien dans les faits ne donne à l'heure actuelle plus de vraisemblance à l'une qu'aux autres. Je m'abstiendrai d'en formuler.

Les petits noyaux arrivés à leur minimum de taille manifestent une tendance marquée à abandonner la forme sphérique pour s'allonger en ovoïdes. En même temps des lacunes se développent dans le cytoplasme qui se condense autour de chacun des noyaux (Pl. XV fig. 6). Les mérozoïtes s'individualisent. Ils sont naturellement très nombreux. On les voit, souvent en faisceaux, rangés sous la mince membrane du schizonte (Pl. XV fig. 4). Ce sont de petits corpuscules légèrement arqués, longs de 10 à 12 μ avec un noyau ovoïde situé à des distances sensiblement égales des deux extrêmités.

En liberté, les mérozoïtes se mettent de suite en mouvement. Suivons l'un deux. Au repos c'est un arc faiblement bandé dont les deux pointes paraissent semblables. Tout-à-l'heure lorsque le corpuscule manifestera sa mobilité, l'une des extrêmités s'acuminera au profit de l'autre alors renflée. Ce sera l'extrêmité antérieure, celle par l'intermédiaire de laquelle le mérozoïte se piquera plus tard sur l'épithélium. Les mouvements en général sont lents. Nous verrons d'abord le mérozoïte se tendre au point d'amener jusqu'au contact ses deux extrêmités, puis revenir avec une vitesse plus grande à la position initiale. Cette seconde partie du mouvement est comme une détente qui déplace le corpuscule tout d'une pièce. L'opération recommence sans arrêt, mais en sens inverse. Vient ensuite un instant de repos, puis les torsions reprennent et cela continue ainsi très longtemps avec régularité. On observe des mouvements très analogues chez des mérozoïtes coccidiens.

Les mouvements des mérozoïtes ont pour premier but d'amener ces derniers dans la lumière du tube digestif. Ils n'y conservent pas longtemps leur liberté. Grâce à leur mobilité ils entrent immédiatement en contact avec l'épithélium et de suite se piquent à sa surface, côte à côte. La lenteur de leurs mouvements, le peu d'amplitude de leurs déplacements ne les éloignent pas les uns des autres et les conservent dans le voisinage du lieu dont ils sont issus. Aussi les trouve-t-on en essaims considérables et condensés, contaminant des régions peu étendues et bien délimitées de l'épithélium intestinal (Pl. XV fig. 5).

D'abord pressés les uns contre les autres, ils se gênent mutuellement; beaucoup doivent périr, car, en fin de compte, il n'en reste plus qu'un seul sur chaque cellule épithéliale. Les autres sont entraînés par le courant intestinal. Cependant quelques-uns ré-

chappent qui parviennent à se piquer de nouveau sur l'épithélium. Ce sont ces derniers qu'on trouve çà et là évoluant isolément dans la paroi de l'intestin.

Le mérozoïte débarrassé des voisins qui entraveraient son libre développement, prend presque aussitôt une forme en lancette. Son noyau redevient sphérique. La chromatine d'abord disséminée tout le long de la membrane nucléaire tend à se condenser en un petit nombre de plus gros grains, d'ailleurs toujours de situation périphérique. Le petit parasite pénètre dans la cellule sur laquelle il s'était fixé. Il pénètre, mais son extrêmité postérieure reste en relation avec le monde extérieur: elle affleure le plateau cellulaire qui jamais ne se referme sur elle. Morphologiquement la Grégarine est extracellulaire (Pl. XV fig. 7—10).

Plongé dans le cytoplasme de la cellule parasitée, le petit *Selenidium* grandit en conservant sa situation et sa forme en lancette. Son extrêmité postérieure restant au même niveau, grandissant il s'enfonce de plus en plus profondément dans la cellule épithéliale. Pendant ce temps son noyau subit les modifications qui l'amèneront peu à peu à prendre les caractères de celui de la forme adulte libre dans la lumière intestinale. La chromatine que nous avons vu tendre à se grouper en quelques gros grumeaux collés sous la membrane nucléaire, se condense de plus en plus par suite de la diminution du nombre des grains qui se fusionnent progressivement. Bientôt le noyau du *Selenidium* ne contient plus qu'un très gros karyosome qu'accompagnent quelques derniers grains, englobés, eux-mêmes à la fin (Pl. XV fig. 7—10). Le noyau définitif est constitné.

Le karyosome unique de ce noyau définitif représente naturellement autre chose que la chromatine du petit mérozoïte. La quantité de cette substance s'est d'abord accrue et il n'est pas sans utilité de faire remarquer qu'il n'en est pas apparu autre part qu'au contact de la membrane nucléaire. Mais ce n'est pas tout. Le karyosome ne semble pas devoir être considéré comme un simple bloc de chromatine pure. En effet, colorons suivant la méthode de Heidenhain un noyau dont le karyosome n'a pas encore absorbé la totalité des grains chromatiques élaborés au contact — aux dépens? — de la membrane nucléaire, puis faisons agir longtemps la solution décolorante d'Alun de fer. Il arrive un moment où le karyosome pâlit, alors que les grains conservent encore leur teinte noir pur (Pl. XV fig. 8). Que conclure de là, sinon que la chromatine du karyosome s'annexe une autre substance qui lui sert de substratum, ou bien alors qu'elle revêt dans ce corps des propriétés de colorabilité spéciales.

Ayant dépassé une certaine taille, vers 40 μ, nos *Selenidium* commencent à montrer les stries snperficielles caractéristiques du genre. Mais auparavant il est déjà possible de mettre en évidence quelques lignes éminemment sidérophiles issues de la pointe antérieure de la Grégarine et étroitement localisées sur cette extrémité (Pl. XV fig. 9). A partir du moment où l'on observe ces lignes pour la première fois on pent les retrouver chez tous les individus et cela jusqu'au début de l'enkystement. Pour les voir, il suffit d'arrêter à temps l'action du décolorant, c'est-à-dire beanconp trop tôt pour le reste de la préparation. Ces lignes qui apparaissent alors en noir intense ne peuvent pas être confondues avec les extrêmités antérieures des stries de l'épicyte. La plupart du temps elles ne snivent pas le même parcours. Alors que les stries superficielles s'écartent également en s'éloignant de leur extrêmité antérieure commune et se distribnent régulièrement sur toute la surface de la Grégarine pour converger ensuite directement vers le pôle postérieur de celle-ci, les lignes sidérophiles décrivent souvent des courbes irrégulières et se disposent les uues par rapport aux autres sonvent anssi sans ordre apparent. Les deux systèmes ne se snperposent pas. Dans leur *Selenidium* „en virgule“, Caullery et Mesnil (1899a) ont aperçu ces lignes sidérophiles; ils disent: „La région qui suit cette partie intracellulaire est toujours colorée en noir intense par la méthode de Heidenhain, et même, on observe denx ou plusieurs génératrices de cette sorte de tronc de cône, tranchant par leur teinte noire.“

Les stries longitudinales apparues et l'extrêmité antérieure du *Selenidium* ayant acquis sa forme définitive (Pl. XV fig. 10), la Grégarine sort de la cellule. Elle se hisse peu à peu en son intérienr, faisant de plus en plus saillir dans la cavité digestive son extrêmité postérieure d'abord, la presque totalité de son corps ensuite. Mais parfois le plateau cellulaire trop résistant refuse de céder aux efforts du parasite et s'oppose à sa libre sortie. Ce dernier doit alors passer par l'orifice seulement un peu élargi qui lui servit d'accès dans la cellule. Il s'amincit alors pour franchir l'obstacle, sa plasticité le lui permet. De là une foule d'aspects différents et quelquefois remarquables. Tantôt la Grégarine, s'étranglent dans le détroit, prend la forme d'un biscuit, d'une haltère. Tantôt c'est une grosse masse arrondie encore intracellulaire, surmontée à l'extérieur d'une longue flaume étroite dans laquelle est passé le noyan. Evidemment l'expression de „point et virgule“ convient à cette dernière disposition. Mais ici c'est nne disposition accidentelle, toute passagère. Enfin

le *Selenidium* peut acquérir beaucoup plus simplement sa liberté, par la destruction partielle de sa prison. Il arrive en effet très fréquemment que toute la région de la cellule occupée par le parasite se flétrit peu à peu, puis disparait totalement; seule la partie basale subsiste avec le noyau: ainsi, dans ce cas, sans efforts de sa part, la Grégarine se trouve hors de l'épithélium.

Mais, que sa situation extérieure soit acquise par son propre déplacement ou par la disparition d'une partie de la cellule-hôte, le *Selenidium* n'est pas encore en liberté complète; il demeure longtemps fixé à l'épithélium intestinal par son extrémité antérieure renflée. Il achève ainsi son développement et ne se détache qu'après avoir atteint ses dimensions définitives. Sa libération ne semble pas du reste se faire aisément. Pour quitter l'épithélium, le *Selenidium* paraît exercer sur le tissu des tractions prolongées. Son col en effet plus étiré à ce moment, de suite raccourci la rupture effectuée; le cytoplasme qui dans la cellule-support s'élève en un cône dont le sommet est le point d'attache du parasite, tout cela donne l'impression d'une tension continue et assez forte. Parasite et épithélium paraissent intimement soudés, la séparation ne pouvant être obtenue que par la traction de l'un, la résistance de l'autre. J'ai déjà eu l'occasion de noter des faits causant la même sensation (1904, p. 233, fig. XXI).

Enfin voici notre *Selenidium* ayant rompu toute relation avec l'épithélium, absolument libre dans la cavité intestinale, que va-t-il faire, se fixera-t-il de nouveau, d'une façon au moins momentanée? Je ne le crois pas. Sa l'ibération est le prélude immédiat de nouveaux phénomènes dans l'évolution de la Grégarine, l'accouplement. Cependant, il faut bien le faire remarquer, le *Selenidium* n'a rien perdu en quittant l'épithélium. Qu'on le comprime légèrement, on verra saillir au dehors toute son extrémité antérieure renflée et la petite digitation terminale. Ici pas d'épimérite caduc. Caullery et Mesnil (1899a), on se le rappelle, attribuent à leur *Selenidium* „en virgule“ un épimérite caduc, à leur *Selenidium* „en point et virgule“, un épimérite permanent. Une telle variabilité pour des formes qui, d'autre part, présentent des caractères si voisins ne satisfait pas notre penchant pour une discipline plus sévère; c'est là une raison qui m'a fait rechercher si la vérité n'est pas ailleurs et je me suis demandé s'il n'y avait pas lieu d'examiner la question de savoir si les *Selenidium* ont un épimérite, avant d'attribuer à cet organe des caractères de caducité ou de permanence. Considérons seulement *Selenidium caulleryi*, que peut-on définir comme épimérite?

— Toute la région antérieure renflée? pourquoi, elle ne présente pas une structure cytoplasmique spéciale qui la différencie du reste de la Grégarine, elle n'est pas plus particulièrement plongée dans la cellule parasitée et ne constitue pas un appareil de fixation bien défini. Alors la petite digitation hyaline terminale? mais, je l'ai déjà fait observer, cette petite digitation terminale ressemble fort au bourgeon amœboïde semblablement placé chez *Lankesteria ascidiae* qui est une Monocystidée; on ne peut qu'homologuer ces deux corpuscules en les considérant comme des organes tactiles. Il me faut cependant dire qu'à l'encontre de ce qui se passe chez *Lankesteria*, le petit appendice de *Selenidium caulleryi* ne joue aucun rôle dans l'accouplement. Je suis donc amené à considérer le *Selenidium* de la Protule comme dépourvu d'épimérite et disposé à étendre ce caractère négatif à tous les autres *Selenidium*. On a déjà vu que j'attribue à une invagination de la pointe antérieure l'aspect tronqué que Caullery et Mesnil considère chez leur *Selenidium* „en virgule" comme une conséquence de la chûte de l'épimérite. Puis avec sa multiplication agame, *Selenidium caulleryi* prend rang dans les Schizogrégarines, la question ne se pose donc pas de savoir s'il rentre dans les *Cephalina* ou les *Acephalina*, s'il appartient aux Monocystidées vraies ou aux Pseudomonocystidées.

Aussitôt après avoir quitté l'épithélium, *Selenidium caulleryi* invagine en partie son extrêmité antérieure; en même temps son corps se raccourcit et se renfle. Les mouvements qui étaient relativement vifs lorsque le *Selenidium* était fixé devennent plus lents. Les individus s'accouplent deux à deux, les phénomènes préparatoires à la sporulation commencent à se manifester.

Ainsi donc, la schizogonie aboutit sans exceptions pour *Selenidium caulleryi* au développement d'individus qui vont se conjuguer deux à deux pour sporuler suivant un processus qui dans ses très-grandes lignes suivra le schéma convenant à la majorité des Grégarines et dont la découverte revient à Siedlecki. Ces individus issus de la multiplication schizogonique sont des gamétocytes. Je ne les suivrai pas cette fois ci dans leur évolution ultérieure. Mais il est un point qui mérite d'être mis en lumière. Il n'y a pas ici de multiplications schizogoniques successives, une seule s'intercale entre deux multiplications sexuées. Le nombre considérable des mérozoïtes d'un schizonte compense cette pénurie et assure une infection suffisante. La transformation inéluctable des mérozoïtes en gamétocytes est démontrée par l'observation directe de leur destinée. On en trouve encore la preuve dans la grande rareté des stades intraépithéliaux.

S'il y avait au contraire plusieurs générations successives de formes agames, ces dernières seraient extrêmement abondantes dans l'épithélium, étant donné le nombre d'éléments issns d'un seul schizonte.

Du reste l'intestin ne résisterait pas à une infection mnltipliée. Les mérozoïtes évoluant presque sur place, on trouve les formes adultes localisées en agglomérations très considérables dans des régions bien circonscrites et peu étendues de l'intestin. La présence de ces amas parasitaires a pour effet d'anéantir parfois presqne complètement l'epithélium intestinal des points attaqués (Pl. XV fig. 14). La mutilation commence de bonne heure par la disparition des cils et de la brosse; elle continue par l'appauvrissement du cytoplasme qui devient de plus en plus transparent et vacnolaire dans la région occnpée par le parasite. Enfin tout le corps celllnlaire situé au dessns du noyau disparaît entièrement. Le noyan par contre, semble peu atteint: à peine observe-t-on parfois quelques traces d'hypertrophie et de karyolyse.

En résumé, le cycle évolutif de *Selenidium caulleryi* s'établit comme il suit:

Le sporozoïte pénètre dans une cellule intestinale de *Protula tubulata* (MONT.), s'y établit et s'accroît tout en restant uninucléé. Au terme de sa croissance, le parasite uninucléé intraépithélial donne naissance par multiplication schizogonique à nn nombre considérable de mérozoïtes mobiles qui vont se piquer sur l'intestin de l'hôte, s'enfoncent dans les cellules épithéliales sans toutefois perdre toute relation avec la cavité digestive. Les mérozoïtes s'accroissent à leur tonr, se transforment sans exception en gamétocytes, formes libres, intestinales, mobiles, à stries longitudinales, qui s'acconplent et s'enkystent deux à deux ponr sporuler.

Les Amœbosporidies n'ayant été formellement introduites qne plus tard dans l'ordre des Grégarines (LÉGER, 1900), le premier exemple de multiplication schizogonique attribué à une Grégarine fut celui que publièrent CAULLERY et MESNIL (1898) pour *Gonospora longissima* C. et M., parasite de *Dodecaceria concharum* (ŒRST.). La Grégarine adulte et les kystes se rencontrent dans le cœlome de l'Annélide, mais des coupes de l'intestin montrent inclus dans les cellules épithéliales, entre le noyau et le plateau: „1° de petits corps mesurant de 3 μ à 10 μ de diamètre composés d'un noyau .... et d'une couche périphérique de protoplasme; 2° des masses analogues

aux plus gros de ces corps, mais avec 2 ou 4 noyaux groupés vers un des pôles; 3° des barillets formés par 6—8 croissants ....; ces croissants ont 8 à 9 μ de long; 4° des croissants isolés en des points divers des cellules épithéliales.“ Les anteurs interprêtent ces diverses productions „comme les diverses phases intracellulaires de l'évolution d'un Sporozoaire“, et, de l'absence constatée chez les très nombreux *Dodecaceria* examinés „d'aucun autre stade de Coccidie“, ils déduisent qu'on ne peut rapporter ces productions qn'à la Grégarine qu'ils viennent de décrire, c'est-à-dire à *Gonospora longissima.* Les éléments provenant de la „multiplication asporulée ou endogène“ intra-épithéliale passeraient dans la cavité générale de l'Annélide.

L'année suivante, après avoir décrit les corps qu'ils considèrent comme des stades intracellulaires de leur *Selenidium* „en point et virgule“ — sphérules colorables avec noyau massif —, Caullery et Mesnil (1899a) ajoutent en note: „A côté de ces formes on en trouve d'autres assez semblables, mais qui, au lien d'une boule chromatique, en offrent nn nombre variant de 2 à 6 ou 8. Ces boules ont alors 1 μ de diamètre. — Ces formes appartiennent-elles aussi à l'évolution de notre parasite? Y aurait-il là un stade de multiplication endogène comparable à celui que nous avons fait connaître pour la *Gonospora longissime?* Les figures que nous avons observées ne sont pas assez nettes pour qne nous l'affirmions.“

La multiplication agame pressentie pour *Ophryocystis bütschlii* Schn., entrevue chez *O. francisci* Schn. par A. Schneider (1884, 1885), démontrée pour *O. schneideri* Lég. et Hagenm. par Léger et Hagenmüller (1900), retrouvée chez plusieurs autres espèces par Léger (1900a), prend nne importance plus grande par le fait de l'incorporation justifiée proposée par Léger (1900) des Amœbosporidies de Schneider aux Grégarines, sons le vocable expressif de Schizogrégarines opposé au terme Eugrégarines réservé anx Grégarines dépourvues du stade de multiplication endogène. A côté d'*Ophryocystis,* dans ce même groupe des Schizogrégarines, Léger place une forme nouvelle, *Schizocystis gregarinoides,* parasite des larves d'un *Ceratopogon,* dont l'évolution se résume ainsi: Le sporozoïte se fixe à l'épithélium de l'hôte, grossit et, par des multiplications nucléaires successives devient un gros schizonte extracellnlaire qni, en se fragmentant, donne autant de mérozoïtes qn'il contenait de noyaux. Les mérozoïtes grossissent à leur tour, s'accolent deux à deux pour s'enkyster et sporuler à la façon des Engrégarines. De cette évolntion je retiendrai ce caractère, propre aussi aux *Ophryocystis,* de l'angmentation parallèle des dimensions dn schizonte et du nombre de ses noyaux.

Dans une note déjà analysée (p. 374), Caullery et Mesnil (1901) signalent une nouvelle Grégarine présentant dans son cycle évolutif une multiplication agame. Il s'agit du *Selenidium* à un seul myonème de *Scolelepis fuliginosa*. Les auteurs se demandent en outre si les parasites intestinaux des Annélides qu'ils ont désignés dans des communications antérieures sous le nom de Coccidies et où ils n'ont jamais observé que des stades uninucléés et des stades à mérozoïtes „ne sont pas des types intermédiaires entre les Coccidies et les Grégarines; Coccidies par leur croissance complètement intracellulaire. Grégarines par l'absence de microgamètes et probablement, par suite, par une conjugaison isogamique".

Minchin (1903) qui adopte la classification de Léger, Schizo- et Eugrégarines, ne place dans le premier groupe que les deux genres *Ophryocystis* et *Schizocystis*. Léger avait indiqué la possibilité d'y faire figurer *Gonospora longissima*. Tous les *Selenidium* restent dans les Eugrégarines.

Provisoirement, j'ai fait (1906) une Schizogrégarine de mon *Eleutheroschizon duboscqi* encore bien mal connu.

Enfin, à la suite des découvertes récentes de Léger et Duboscq (1906), les *Aggregata* des Crustacés et par cela même les *Eucoccidium* des Céphalopodes s'introduisent parmi les Schizogrégarines. Les *Aggregata* ne sont en effet que des formes à multiplication agame de Grégarines digénétiques dont les formes sexuées vivent chez les Céphalopodes où elles constituent les *Eucoccidium*, prétendues Coccidies dont Moroff (1906) vient de faire connaître la nature grégarinienne.

La présence de stades à mérozoïtes est très fréquente dans l'épithélium intestinal des Annélides polychètes. En général, ils sont peu nombreux dans chaque individu contaminé, mais ils se montrent dans beaucoup d'espèces; j'en connais un grand nombre où leur présence n'a pas encore été signalée. On trouve ces stades à mérozoïtes associés à des stades uninucléés et la plupart du temps, c'est tout ce qu'on voit. Caullery et Mesnil qui les décrivirent d'abord comme Coccidies émettent maintenant l'hypothèse que l'on sait. A vrai dire, rien ne prouve à l'heure actuelle que tous ces parasites soient équivalents. Il faudra suivre chacun d'eux jusqu'à la sporulation pour s'assurer s'il ne fait pas partie du cycle d'une Grégarine intestinale ou cœlomique achevant son développement peut-être dans un autre hôte, d'une Coccidie ou d'une être intermédiaire.

Dans mon travail de 1904, j'eus l'occasion de signaler la présence de tels stades à mérozoïtes dans l'épithélium intestinal de la Pecti-

naire, *Lagis koreni* (Mgr.), et je ne crus pas être en droit de rattacher ces stades et les mérozoïtes isolés, petits corpuscules claviformes, à la Grégarine cœlomique *Urospora lagidis* Saint-Jos., si fréquente dans l'Annélide, à l'état de kystes. A ce sujet, Mesnil (1904) écrit: „Il nous semble qu'il y aurait eu lien de songer à leurs rapports avec l'*Urospora* dont ils représenteraient la phase schizogonique analogue à celle signalée chez la Grégarine cœlomique d'une autre Annélide“ (*Gonospora longissima* C. et M.). Ayant à figurer dans le même travail un lambeau intestinal d'*Audouinia tentaculata* (Mont.), je choisis volontairement, bien que ce fut étranger au but visé alors, un point où se trouvait un barillet de mérozoïtes (1904, p. 177, fig. 16). Et Mesnil d'ajouter: „Page 177, dans une coupe d'intestin d'une autre Annélide (*Audouinia*), B. dessine aussi un barillet; or l'Annélide en question est encore une des rares à avoir une Grégarine cœlomique: le rapprochement est au moins suggestif.“

Mais ces rapprochement, je les avais envisagés; ils me semblaient alors si hypothétiques que vraiment il me parut plus sage de figurer les faits et de laisser chacun les interpréter à sa guise. Rien, en effet, ne permettait, au point de vue observation directe de rattacher les stades schizogoniques rencontrés, à l'*Urospora* chez la Pectinaire, à la *Gonospora* pour l'*Audouinia*. Et cela d'autant plus que pour cette dernière, je connaissais déjà quelques-unes des formes de la véritable Coccidie que je décrivis plus tard (1904 a) et qu'il se pouvait très-bien que les stades à mérozoïtes intestinaux fissent partie de son évolution. Puis, d'un autre côté, Caullery et Mesnil (1901) venaient de signaler un *Selenidium* se multipliant par voie agame; pour quelle raison aurais-je attribué les barillets de l'*Audouinia* plutôt à la *Gonospora* cœlomique, qu'à l'un des divers *Selenidium* intestinaux qu'héberge cette Annélide? Et, il faut bien le dire encore, cette découverte même d'un stade schizogonique possible chez *Selenidium* rend singulièrement plus ténu le lien déjà fragile qui chez *Dodecaceria* réunit barillets intraépithéliaux et *Gonospora* cœlomique. On l'a vu plus haut, Caullery et Mesnil ne rapportent à *Gonospora longissima*, les stades schizogoniques de l'intestin que parce qu'ils n'ont jamais trouvé chez les très nombreux *Dodecaceria* examinés „aucun autre stade de Coccidie“. Il n'ont pas vu d'autres stades coccidiens, mais ils ont vu un *Selenidium* et quel *Selenidium*! Rappelons en quelques mots une des observations des auteurs: Les *Dodecaceria* contenant le *Selenidium* sont très rares, trois sur plusieurs centaines, mais par contre les individus contaminés renferment en nombre considérable le parasite, au point que les

parois du tube digestif en sont distendues. Cela n'est-il pas significatif? Même sans connaître ce que je décris pour *Selenidium caulleryi*, ne vient-il pas de suite à l'esprit que le *Selenidium* de *Dodecaceria* doit se multiplier d'une façon intensive par schizogonie. Et alors devant l'exemple du *Selenidium* schizogonique de *Scolelepis*, devant les considérations que je viens de développer, que deviennent les barillets de *Dodecaceria*; pourquoi, en l'absence de toute observation précise en faire plutôt un stade de *Gonospora longissima*, qu'un stade de *Selenidium echinatum*. Evidemment il y a là place à l'hésitation.

Cependant il est des arguments en faveur de la thèse de CAULLERY et MESNIL. J'en ferai connaître.

D'abord les barillets de *Dodecaceria* avec leurs 6 à 8 éléments sont bien différents de nos schizontes se démembrant chacun en plusieurs centaines de mérozoïtes. Et si les infections intensives s'expliquent facilement avec ces derniers, on doit reconnaître que pour *Selenidium echinatum* elles demanderaient plusieurs générations schizogoniques successives. Rien, il est vrai, n'indique qu'il n'en est pas ainsi. On peut encore dire pour expliquer la grégarinose aiguë de *Dodecaceria*, sans faire intervenir les barillets ou toute autre forme de multiplication endogène, que les sporocystes se développant totalement par exception dans l'hôte, ils peuvent servir à l'extension sur place du parasite. Je donne cette explication pour ce qu'elle vaut.

Mais examinons de près le cas de la Pectinaire. Là, malgré le nombre très considérable d'individus examinés, aucun *Selenidium* n'a été rencontré, seulement, dans l'intestin, le petit sporozoaire claviforme et les barillets et, remarque importante, on les trouve indifféremment à toutes les époques de l'année. (De cette nomenclature, j'excepte *Joyeuxella* qui paraît toute autre chose.) Cherchons maintenant l'*Urospora*: les stades végétatifs, les accouplements, les kystes libres immatures ou mûrs ne s'observent que pendant un temps relativement court de fin avril à la mi-Juin. Passé cette date on ne voit plus dans le cœlome que des kystes dont le développement est achevé ou presque achevé et adhérant à l'endothélium péritonéal. La dissémination des sporocystes de tels kystes ne saurait s'effectuer que par la mort de l'hôte et la mise en pièces de son cadavre. D'ailleurs ces kystes ne doivent pas être utilisés; la plupart — tous peut-être — finissent tôt ou tard par devenir la proie des amœbocytes qui les assiègent et leur font un épais manteau. Comment s'opèrent donc la conservation de la Grégarine et l'infection de nouvelles Pectinaires — et cette infection ne peut être que facile, toutes les Pectinaires contenant presque sans exception le

parasite? Voici. La maturation sexuelle est concomitante chez le parasite et chez l'hôte: pendant que la Grégarine grandit, s'accouple et sporule dans le cœlome, spermatozoïdes et ovules se développent, puis par les mêmes voies, simultanément, produits génitaux et kystes mûrs sont rejetés à l'extérieur, à l'exception de ceux de ces derniers qui, appréhendés par les phagocytes, demeurent incarcérés le long de la paroi cœlomique. Cette coïncidence de la sporulation de la Grégarine avec la maturité des produits génitaux de l'Annélide a été également notée pour *Gonospora longissima* et *Dodecaceria concharum* par Caullery et Mesnil (1898 a) qui mettent justement en relief le profit que le parasite retire de cette circonstance assurant l'expulsion et la dissémination de ses sporocystes. Le problème se pose alors ainsi: Les formes végétatives de l'*Urospora* et ses kystes utilisables se rencontrent chez la Pectinaire uniquement pendant les trois mois de la durée du printemps, la dissémination des sporocystes s'effectue à la même saison, surtout vers la fin, mais se termine avec elle; que devient donc le parasite pendant le reste de l'année? J'écarte de suite l'hypothèse d'un deuxième hôte. La Pectinaire ne se nourrit que des particules organiques, des protophytes, des foraminifères enfouies dans le sable qu'elle habite où elle se dispose l'extrémité antérieure en bas, enfoncée relativement profondément. Dans ces conditions le passage du parasite d'un autre hôte dans la Pectinaire semble bien difficile. Il est aussi difficile d'admettre que les kystes peuvent rester dans le milieu extérieur pendant les trois-quarts de l'année pour être absorbés par l'Annélide à la fin de l'hiver et donner naissance à une nouvelle génération de Grégarines. Une autre hypothèse est plus vraisemblable: les kystes sont avalés par les Pectinaires peu après leur émission, les sporocystes s'ouvrent dans l'intestin, les sporozoïtes revêtent une forme d'attente qui leur permet d'atteindre le printemps où se manifestera de nouveau pour la Grégarine, l'activité reproductrice. Mais cette forme d'attente, quelle est-elle? La *Joyeuxella*? Peu croyable: j'ai décrit pour ce Sporozoaire des phénomènes de sexualité qui tendent à l'éliminer. Il ne reste que les barillets et le petit corpuscule claviforme que j'en fais dériver. Mais alors c'est la schizogonie dont Caullery et Mesnil dotent leur *Gonospora longissima*, à laquelle Mesnil songe pour *Urospora lagidis*. Et pourquoi pas? Si rien ne démontre formellement l'existence d'un stade de multiplication endogène pour *Urospora*, il faut reconnaître aussi que rien ne s'y oppose. Admettons donc pour un instant que barillets, petit sporozoaire claviforme, *Urospora* ne soient que les différents aspects d'une même unité spécifique et

examinons si, à la faveur de cette hypothèse, un peu de lumière est jetée sur l'évolution de la Grégarine, en particulier si une explication vraisemblable de l'apparition si courte de celle-ci dans le cœlome est possible. Pourquoi les mérozoïtes restent-ils dans l'épaisseur de la tunique intestinale au lieu de gagner tout de suite la cavité cœlomique? On a décrit les modifications profondes que le tube digestif subit chez plusieurs Annélides polychètes au moment du développement des produits génitaux. Le phénomène est plus général. On le retrouve, quoique atténué, chez un très grand nombre de formes. Je compte revenir sur cette question dans un avenir prochain. En tous cas, le phénomène atteint en particulier l'intestin de la Pectinaire et c'est la résistance moindre d'un épithélium en hystolyse plus ou moins complète qui rendrait la migration vers le cœlome plus facile à un moment déterminé de l'année, au moment de la genèse et de la maturation des éléments reproducteurs. Nous voudrions que CAULLERY et MESNIL revissent leurs coupes de *Dodecaceria* et qu'ils disent si dans la forme B, le parasite est présent dans le cœlome, libre ou phagocyté, peu importe, avant toute modification de la tunique intestinale, avant toute apparition de réserves dans les amœbocytes du liquide cavitaire. Il semble bien qu'il n'y ait pas encore pénétré. Les auteurs nous apprennent en effet que la pénétration et la croissance du parasite à l'intérieur du cœlome coïncident avec l'accumulation des réserves dans les amœbocytes, c'est-à-dire avec la modification épithéliale de l'intestin. Mais comme d'autre part, CAULLERY et MESNIL attribuent aux amœbocytes vides de réserves un intense pouvoir phagocytaire, il est indispensable de préciser les raisons de l'absence du parasite dans le cœlome des formes B jeunes: ne l'y trouve-t-on pas parce qu'il n'y passe pas encore, ou bien par ce qu'il est détruit par phagocytose à mesure qu'il se présente.

C'est dans la forme B seule, c'est-à-dire dans la forme épitoque nageuse, que se développe *Gonospora longissima*, et c'est aussi dans cette forme seule que le tube digestif s'atrophie de bonne heure. Dans la forme C, forme épitoque sédentaire, l'intestin se modifie beaucoup plus tardivement. Il serait vraiment intéressant de constater que l'absence du parasite dans cette forme C est précisément due à la résistance plus grande de l'intestin au moment où devrait s'effectuer la migration.

Je rappelle maintenant l'action du petit Sporozoaire claviforme de la Pectinaire sur la cellule intestinale qu'il parasite. Le noyau s'hypertrophie, puis le corps cellulaire qui perd en même temps le

contact de la surface cuticulaire. La cellule-hôte devient une cellule basale intercalée entre les pieds des cellules normales contiguës et fait de plus en plus hernie dans la cavité générale: pour peu que l'intestin se disloque, il y a grande chance qu'elle y soit précipitée, elle ou simplement son contenu.

Un mot encore. Ce que je viens de dire sur la présence momentanée des formes végétatives et des kystes libres d'*Urospora* dans le cœlome de la Pectinaire, peut se répéter pour la *Gonospora* de l'*Audouinia* avec cette particularité, qui est une aggravation, que là aucun kyste ne reste dans la cavité générale; les amœbocytes se désintéressent totalement de la Grégarine, quel que soit l'état de son développement et tous les kystes sans exception sont expulsés avec les produits génitaux. Mais, dira-t-on, chez l'*Audouinia*, il y a des *Selenidium* et il n'est plus permis de disposer des schizontes de l'intestin sans tenir compte de ce que peuvent exiger à ce sujet ces derniers. Cela est vrai. Seulement, il est bon qu'on le remarque, chez l'*Audouinia* déjà si bien dotée en parasites, je connais au moins deux stades à mérozoïtes intraépithéliaux: l'un, celui que j'ai representé (1904, p. 177, fig. 21) est logé dans la région profonde de l'épithélium; les mérozoïtes peuvent être au nombre d'une trentaine, ils sont relativement de grande taille, leur longueur atteignant 20 μ; l'autre est plus superficiel, il se tient dans la cellule parasitée entre le noyau et le plateau cuticulaire; les mérozoïtes sont moins nombreux et plus petits, ils ne dépassent pas 12 μ. Enfin il y a les enkystements solitaires des *Selenidium* si souvent cités et dont on ignore totalement l'évolution et le résultat. Ces enkystements solitaires ne sont-ils pas des schizontes libres? C'est une pure hypothèse, car pour mon compte, je n'ai jamais rencontré ces enkystements solitaires dans des conditions de garantie suffisante, pour être absolument persuadé qu'ils sont aussi fréquents qu'on le croit. Ainsi que le font remarquer très justement CAULLERY et MESNIL (1900a), l'adhérence des deux *Selenidium* associés est assez faible et je suis tout disposé à penser que nos préparations provoquent beaucoup de divorces et que bien des *Selenidium* isolés le sont par notre faute.

De cette exposition impartiale de la question de la multiplication schizogonique des Grégarines cœlomiques des Annélides polychètes, une conclusion se dégage: c'est que si beaucoup d'observations tendent à faire considérer comme probable pour ces parasites l'existence d'une telle multiplication, cette existence n'est pas aujourd'hui formellement démontrée. De nouvelles recherches s'imposent.

On peut grouper ainsi qu'il suit en trois familles, les Schizogrégarines actuellement connues:

Fam. ***Amœbosporidiidae*** A. Schneider. Schizonte extracellulaire accroissant simultanément son volume et le nombre de ses noyaux.

Ophryocystis A. Schneider. Plusieurs espèces parasites des tubes de Malpighi et de l'intestin de divers Coléoptères. Un seul sporocyste.

? *Eleutheroschizon* Brasil. Une espèce parasite de l'intestin d'une Annélide polychète, *Aricia mülleri.*[1]) La reproduction sexuée n'est pas connue. Rappelle *Ophryocystis* par sa forme générale et son mode de station sur l'épithélium intestinal.

Schizocystis Léger. Une espèce parasite des larves d'un *Ceratopogon.* Sporocystes nombreux.

Fam. ***Selenidiidae*** nov. Fam. Schizonte intracellulaire uninucléé pendant sa croissance, devenant multinucléé seulement au terme de son développement. Gamétocytes libres, mobiles, pourvus de myonèmes longitudinaux. Parasites d'Annélides polychètes.

Selenidium Giard [*pro parte?*]. Des coupures ne pourront être faites que lorsque seront connus les caractères de l'espèce-type, *S. pendula* Giard qui a un droit de préemption sur le nom générique. Créer dès maintenant de nouveaux genres pour les formes sur lesquelles nous sommes mieux renseignés, c'est s'exposer à introduire, sans intérêt pressant, des noms dont l'un pourrait dans la suite faire double-emploi avec *Selenidium.*

Les *Selenidium* chez lesquels un stade schizogonique a été observé sont au nombre de deux: le *Selenidium* à un seul myonème de *Scolelepis fuliginosa,*[2]) et *Selenidium caulleryi.* Nous avons vu que la présence d'une schizogonie est probable chez *S. echinatum* C. et M. de *Dodecaceria.* Je pense qu'elle existe également chez les divers *Selenidium* possédant des stades intraépithéliaux, tel le deuxième

[1]) Je restitue à l'hôte d'*Eleutheroschizon* son véritable nom. De Saint-Joseph a démontré que l'Annélide des côtes de France souvent déterminée *Scoloplos armiger* (Erst. doit être appelée *Aricia mülleri* Rathke (Annélides polychètes des côtes de France. Ann. Sci. nat. Zool. Série 8 v. 5 p. 356.

[2]) Je manifesterai le regret que Caullery et Mesnil qui ont contribué d'une façon si efficace à la connaissance des Sporozoaires des Annélides, ne se soient pas acquis un nouveau droit à la gratitude des protistologues en décrivant plus longuement et en figurant une multiplication schizogonique que de leur propre aveu ils ont suivi „en détail et sans lacunes“ et qui constitue une de leurs plus intéressantes découvertes.

Selenidium de *Scolelepis fuliginosa* signalé par Caullery et Mesnil (1901), etc.[1]).

Fam. ***Aggregatidae*** Labbé. Schizontes sous-épithéliaux (cœlomiques) dans lesquels la multiplication nucléaire ne commence qu'au terme de la croissance. Mérozoites en rosace autour de reliquats sphériques. Parasites de Crustacés. Gamétocytes et sporulation dans la paroi intestinale de Céphalopodes.

Aggregata Frenzel [= *Eucoccidium* Lühe]. Plusieurs espèces parasites de Crustacés décapodes et de Céphalopodes.

Index bibliographique.

1904 Brasil, L.: Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. L'épithélinm intestinal de la Pectinaire. in: Arch. Zool. expér. Série 4 v. 2 p. 91.

1904a —: Sur une Coccidie nouvelle, parasite d'un Cirratnlien. in: C. R. Ac. Sci. Paris v. 139 Nr. 17 p. 645.

1906 —: *Eleutheroschizon duboscqi*, Sporozoaire nouvean parasite de *Scoloplos armiger* O. F. Müller. in: Arch. Zool. expér. Série 4 v. 4 N. et R. Nr. 1 p. XVII.

1898 Caullery, M. et F. Mesnil: Sur une Grégarine cœlomique présentant dans son cycle évolntif une phase de multiplication asporulée. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 50 p. 65.

1898a —: Les formes épitoques et l'évolntion des Cirratuliens. in: Ann. Univ. Lyon fasc. XXXIX.

1899 —: Sur l'évolntion d'un groupe de Grégarines à aspect nématoïde, parasites des Annélides marines. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 51 p. 7.

1899a —: Snr quelques parasites internes des Annélides. in: Trav. Stat. zool. Wimerenx v. 7 p. 80.

1900 —: Snr les parasites internes des Annélides polychètes, en particulier de celles de la Manche. in: C. R. Assoc. franç. Avanc. Sci. Boulogne-snr-mer 1899 p. 491.

1900a —: Snr un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. in: Arch. Anat. microsc. v. 3 p. 146.

1901 —: Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des Grégarines. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 53 p. 84.

1905 —: Recherches sur les Haplosporidies. in: Arch. Zool. expér. Série 4 v. 4 Nr. 3 p. 101.

[1]) Je ne m'explique que par l'existence de stades intraépithéliaux la présence simnltanée de *Selenidium costatum* Siedl. dans l'intestin et le cœlome de *Polymnia* (Siedlecki, 1903). Les individns cœlomiques me paraissent être des égarés, soit que des sporozoïtes devant faire un stage dans l'épithélium intestinal en aient accidentellement dépassé la limite inférieure, soit que des mérozoïtes développés dans cet épithélium et destinés à évolner dans la cavité digestive soient tombés par erreur dans le cœlome de l'hôte.

1884 Giard, A.: Note sur un nouveau groupe de Protozoaires parasites des Annelides et sur quelques points de l'histoire des Grégarines. in: Assoc. franç. Avanc. Sci. Blois 1884 p. 192.
1863 Lankester, E. Ray: On our present knowledge of the Gregarinidae, with descriptions of three new species belonging to that class. in: Quart. Journ. microsc. Sci. n. ser. v. 3 p. 83.
1900 Léger, L.: Sur un nouveau Sporozoaire des larves de Diptères. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 52 p. 868.
1900a —: La reproduction sexuée chez les *Ophryocystis*. in: C. R. Soc. Biol. Paris v. 52 p. 927.
1906 Léger, L. et O. Duboscq: Sur l'évolution des Grégarines gymnosporées des Crustacés. in: C. R. Ac. Sci. Paris v. 142 p. 1225.
1900 Léger, L. et P. Hagenmüller: Sur la morphologie et l'évolution de l'*Ophryocystis schneideri* n. sp. in: Arch. Zool. expér. Série 3 v. 8 N. et R. Nr. 3 p. XL.
1904 Mesnil, F.: Analyse de Brasil (1904). in: Bull. Inst. Pasteur Paris v. 2 p. 573.
1903 Minchin, E. A.: The Sporozoa. in: Treat. on Zool. ed. by E. Ray Lankester part 1 fasc. 2 p. 150.
1893 Mingazzini, P.: Contributo alla Conoscenza degli Sporozoi. in: Ric. Labor. Anat. norm. Univ. Roma v. 3 fasc. 1 p. 31.
1906 Moroff, T.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. in: C. R. Ac. Sci. Paris v. 142 p. 652.
1906 Saint-Joseph, de: Les Annélides polychètes des côtes de France (Océan et côtes de Provence). in: Ann. Sci. nat. Zool. Série 9 v. 3 p. 145.
1884 Schneider, A.: *Ophryocystis bütschlii*, Sporozoaire d'un nouveau type. in: Arch. Zool. exp. Série 2 v. 2 p. III.
1885 —: *Ophryocystis francisci*. in: Tabl. zool. v. 1 p. 1.
1899 Siedlecki, M.: Über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidiae* R. Lank. in: Bull. intern. Ac. Sci. Cracovie 1899 p. 515.
1901 —: Contribution à l'étude des changements cellulaires provoqués par les Grégarines. in: Arch. Anat. microsc. v. 4 p. 87.
1903 —: Quelques observations sur le rôle des amibocytes dans le cœlome d'une Annélide. in: Ann. Inst. Pasteur Paris v. 17 p. 449.

Explication des Figures.

Le matériel a été fixé par le Formol-Alcool picro-acétique. Les préparations ont été colorées suivant la méthode de Heidenhain, Hématoxyline-Alun de fer.

Planche XV.

Selenidium caulleryi n. sp.

Fig. 1. Jeune stade intracellulaire. × 850.

Fig. 2. Stade intracellulaire uninucléé parvenu au terme de sa croissance. × 850.

Fig. 3. Schizonte intraépithélial. Les noyaux ne sont pas encore parvenus à leur plus petite dimension; comparer avec la fig. 5. × 1200.

Fig. 4. Fragment d'un schizonte intraépithélial. Le globule sidérophile annexé à chaque noyau. × 1200.

Fig. 5. Schizonte intraépithélial. Les mérozoïtes. × 1000.

Fig. 6. Fragment d'épithélium intestinal de *Protula tubularia* (Mont.) montrant, × 850:

Un schizonte intraépithélial dans lequel débute l'individualisation des mérozoïtes.

Un essaim de mérozoïtes fixés sur la paroi libre de l'intestin et ayant déjà subi quelques modifications de forme.

Fig. 7. Jeunes gamétocytes. La chromatine nucléaire s'accroît au contact de la membrane et s'agglomère en grumeaux. × 900.

Fig. 8. Gamétocytes plus âgés. La décoloration plus grande atteint le karyosome, mais respecte les grains chromatiques encore libres. × 900.

Fig. 9. Gamétocyte plus âgé. Les stries sidérophiles de l'extrêmité antérieure dans une préparation peu décolorée. × 700.

Fig. 10. Gamétocyte presque adulte commençant à sortir de la cellule intestinale. × 700.

Fig. 11—12. Gamétocytes adultes libres. × 700.

Fig. 12. Individu venant de quitter l'épithélium.

Fig. 13. Extrêmité antérieure d'un gamétocyte adulte libre avec le petit appendice hyalin terminal dévaginé. × 700.

Fig. 14. Fragment d'épithélium intestinal de *Protula tubularia* (Mont.). Un amas de *Selenidium caulleryi* et les lésions qu'ils causent. × 200.

Chloromyxum protei n. sp., ein in der Niere des Grottenolmes parasitierendes Myxosporidium.

Von
H. Joseph (Wien).

(Hierzu Tafel XVI u. XVII und 1 Textfigur.)

Vor längerer Zeit fand ich bei der Durchsicht von Schnitten durch die Niere des Olmes das im Titel angegebene neue Protozoon und habe diesen Fund in einer vorläufigen Mitteilung[1]) veröffentlicht. Ich hielt mit der ausführlichen Veröffentlichung vor allem aus dem Grunde zurück, weil ich damals die Hoffnung noch nicht aufgegeben hatte, an diesem anscheinend sehr günstigen Untersuchungsobjekte eine Andeutung der geschlechtlichen Vorgänge zu finden, wobei ich schon höchst zufrieden gewesen wäre, abgesehen von jedem näheren Detail wenigstens den Ort und den Zeitpunkt des betreffenden Prozesses festzustellen. Es ist mir dies in der Folge ebensowenig als meinen Vorgängern gelungen, hingegen glückte die Feststellung von ein paar Tatsachen, namentlich bezüglich des intracellulären Parasitismus der Jugendstadien, die für die Myxosporidien oder wenigstens für das Genus *Chloromyxum* neu sein dürften.

Das Material zu meinen Untersuchungen entstammte zunächst einem Exemplare von *Proteus*, das ich mit einigen anderen aus der „Biologischen Versuchsanstalt“ im Wiener Prater erhalten hatte. Ich möchte an dieser Stelle den Besitzer und Leiter genannter Anstalt, meinen werten Kollegen Herrn Privatdozenten Dr. Hans Przibram, meines herzlichsten Dankes für die reichliche Unter-

[1]) *Chloromyxum protei n. sp.* Zool. Anz. Bd. XXIX 1905.

stützung mit Material versichern. Da meine beabsichtigten Untersuchungen sich auf die cytologischen Verhältnisse der Anamnierniere bezogen, war die Technik eine hierfür angepaßte und entsprach durchaus nicht völlig den Bedürfnissen, welche die gelegentliche Entdeckung des Parasiten zum Zwecke von dessen weiterer Untersuchung bei mir wachriefen. Es waren ausschließlich Schnitte, die mir zur Verfügung standen, von diesen wieder nur ein geringer Teil Serienschnitte aus Paraffineinbettung, zum größten und wesentlichsten Teile waren es dünne Celloidinschnitte. Gerade die letzteren waren von tadelloser Beschaffenheit, im Vergleich mit welcher der für gewöhnliche Verhältnisse recht günstige Zustand der Paraffinschnitte als ein gar nicht zufriedenstellender erschien. Überhaupt möchte ich schon hier darauf hinweisen und nachdrücklich betonen, daß man bei Untersuchungen feiner und feinster Strukturen mit großem Unrecht der Paraffinmethode einen allzu großen Vorzug einräumt. Man muß die Unbequemlichkeit und Kompliziertheit einer guten Celloidinmethode in den Kauf nehmen, um dafür nachher durch Präparate belohnt zu werden, die den Paraffinschnitten weitaus überlegen sind. Speziell bei der Untersuchung der zarten Nierenzellstruktur habe ich bemerken können, daß offenbar die Hitze des Paraffinprozesses oft im höchsten Grade schädigend, entstellend und die Färbbarkeit mit Lackfarbstoffen ungünstig beeinflussend wirkt. Es läßt sich bei nur einiger Sorgfalt die Celloidinmethode so meistern, daß man mühelos Schnitte von 2,5 oder 5 μ erhält. Als Nachteil bei der Untersuchung des Chloromyxum empfand ich es freilich, daß die Schnitte nicht serienweise aufgelegt waren, sondern durcheinander. Ich mußte, wenn ich ein Tier auf verschiedenen Schnitten verfolgen wollte, mit großer Mühe die Nachbarschnitte in den verschiedenen Präparaten aufsuchen, was mir auch recht häufig gelang, infolge des Umstandes, daß ich beim Schneiden nur relativ wenige Schnitte verloren hatte.

Das Bedürfnis, die Tiere im lebenden und ganzen Zustande zu sehen, wurde befriedigt durch ein nach fruchtloser Opferung mehrerer Olme aufgefundenes Exemplar, das sich als infiziert erwies. Ich konnte dabei das lebende Tier beobachten, die Herstellung von gefärbten Totopräparaten durch Isolation aus den Nierenkanälchen mißlang aber, es waren offenbar zu wenige Parasiten vorhanden.

Betrachtet man einen Querschnitt durch die Niere eines infizierten *Proteus*, so fallen die Parasiten meist schon bei schwacher Vergrößerung durch ihre Lage im Lumen der Nierenkanälchen, ihre zahlreichen kleinen Kerne, die mit Eisenhämatoxylin meist ziemlich

dunkel gefärbten Sporen und vor allem dann anch anf, wenn sie einen Kanälchenabschnitt fast vollständig ausfüllen (Fig. 1). Die Größe der ansgewachsenen Parasiten mag Schwankungen unterworfen sein, doch ist dieselbe jedenfalls eine begrenzte. Bildung von auf weite Strecken ausgedehnten Plasmodien wurde nicht beobachtet. Die Messung an einem lebend isolierten kleinen Objekte mit bloß zwei Sporen ergab 40 μ Länge und 28 μ Breite. Das obere Tier in Fig. 8, das ziemlich seinen größten Dimensionen nach vom Schnitt getroffen ist, mißt 75 μ in der Länge und 40 μ in der Breite.

Die Lage der Parasiten zum Epithel kann eine sehr verschiedene sein. Vorherrschend ist es, daß die Tiere mit einer abgeflachten Seite dem Bürstenbesatz der Drüsenzellen dicht aufliegen, ohne daß jedoch dieser oder die Zellen überhanpt dadurch irgendwie in Mitleidenschaft gezogen werden (Fig. 3, 9, 15, 16, 23). Vom Standpunkt der Histologie scheint mir dieses Verhalten insofern interessant, als es ein kleiner Beweis mehr ist für die Unbeweglichkeit der Bürstenhaare, denn sonst könnten kleine Körper, wie die Parasiten in Fig. 9, nicht an Ort und Stelle liegen bleiben. Gerade die Anlagernng an die Wand scheint mir ein Mittel zu sein. um die vorzeitige Heransschwemmung durch den Achsenstrom zu verhindern. Wenn später am Ende ihres Lebens die Plasmakörper zerfallen (Fig. 24 u. 25), mangelt den runden Sporen die Möglichkeit eines solchen Haltes und sie können dann leicht herausgeschwemmt werden. Daß der Aufenthalt in den Drüsenkanälen mit ihrem höchstwahrscheinlich sehr schwachen Wandstrom und ihrer überhaupt schwächeren Flüssigkeitsbewegung für die heranwachsenden nnd reifen *Chloromyxum* eine Lebensbedingung ist, geht auch darans hervor, daß man sie im extracellnlären Zustande niemals in den mit großer Heftigkeit durchströmten flimmernden Anfangsteilen der Urnierenkanälchen findet.

Die Gestalt ist meist rundlich oder walzenförmig und bietet weiter nichts Erwähnenswertes dar. Eine ausgesprochene Schichtung des Plasmas konnte nicht festgestellt werden, die Einschlußkörper der verschiedensten Art können ebensogut die äußerste Peripherie wie das Centrum einnehmen. Während der Zeit, in der ich die lebenden Tiere beobachten konnte, waren Bewegungen nur in einem nngemein geringen Grade zu beobachten. Ausgesprochene Pseudopodienbildungen wurden gänzlich vermißt. Die Kerne waren im frischen Exemplar unsichtbar, wie dies schon Doflein berichtet.[1])

[1]) Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. XI 1898.

Gehen wir nunmehr bei der Besprechung der Details von den freien, ohne weitere Umhüllnng in den Drüsenkanälchen befindlichen Individuen aus. Bei der Betrachtung meiner photographischen Fignren wird man gut tnn, in vielen Fällen auf den Unterschied zwischen den Kernen und den eigentümlichen tropfenartigen Einschlüssen zu achten, auf welchen ich dort, wo dies nicht ohne weiteres ersichtlich, hinweisen werde.

Die meiner Ansicht nach jüngsten Individuen, die sich frei vorfanden, waren von zweierlei Art. Ich fand ganz kleine Stücke, die in bezng auf ihre Kerne noch sehr denen ähnelten, die intracellulär liegen (wie man sie beispielsweise in Fig. 5, 6 n. 7 sieht). Ein solches Exemplar ist in Fig. 9 ganz links enthalten. Wir sehen ein Stückchen Protoplasma, welches dicht erfüllt ist mit kleinen, ungemein stark gefärbten Kernen. (Zu nnterscheiden von den in den beiden anderen Individuen derselben Figur sichtbaren und bedeutend größeren Tropfeneinschlüssen.) Man darf wohl annehmen, daß solche Exemplare wie das erstgenannte erst vor kurzem das intracelluläre Stadinm dnrchgemacht haben. Andererseits gibt es Formen, wie in Fig. 3, die bereits eine beträchtliche Größe, zahlreiche, weniger dicht gedrängte, blasser färbbare Kerne haben nnd ihre Jugend dadurch doknmentieren, daß noch keine Andeutnng von Sporulation vorhanden ist. Beiden genannten Formen fehlen die tropfenartigen Einschlüsse, die im allgemeinen sicher erst in vorgeschrittenen Stadien anftreten und sogar stark überhand nehmen, so daß andere Dinge, wie z. B. die Kerne. verdeckt werden können. Daß dennoch in kleineren nicht sporulierenden Exemplaren solche Tropfen auftreten können (Fig. 9, die beiden größeren Individnen), möchte ich dadurch erklären, daß dieselben auf dem Wege der Teilung oder Knospung von bereits weiterentwickelten Individuen herzuleiten sind, für welche Annahme mir die Erfahrungen Cohn's bei *Myxidium lieberkühnii* nnd die Doflein's bei *Chloromyxum leydigi* die Grundlage abgeben. In diesen beiden Exemplaren der Fig. 9 sind die Kerne schon ein wenig größer als in Fig. 3, wie ich überhaupt in der hier besprochenen Lebensperiode eine Zunahme der Kerngröße mit allmählicher Anfhellung (bei Eisenhämatoxylinfärbung) beobachten kann.

Die älteren Tiere, in denen bereits Sporenbildnng eingetreten ist, zeigen eine oft enorme Zunahme der Tropfeneinschlüsse, wie man dies in Fig. 14, 15, 16, 17, 21, 33, 34 und anderen bemerken kann. Vor allem in Fig. 21 bleibt neben den Tropfenmassen fast nichts zu sehen übrig als die Sporoblasten resp. die jungen Sporen. Es scheint mir, als ob die Zunahme der Tropfen parallel gehe mit

einer allmählichen Degeneration des Plasmakörpers, ursächlich mit diesem Vorgang verbunden sei und den Zerfall des Plasmas und das Freiwerden der Sporen einleite. Es wäre also die Deutung dieser Tropfen als Produkt eines degenerativen Stoffwechsels in diesem Falle ganz am Platze. Ich will hier gleich meine Beobachtungen über die Substanz der Tropfen anreihen. Im frischen Zustand lebhaft orange bis braungelb gefärbt, behalten die Tropfen nach den verschiedensten Fixierungen ihre Farbe und erscheinen in demselben brillanten Ton beispielsweise in mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten. Sie sind, wenigstens im konservierten Zustande, in Alkohol und Äther vollständig unlöslich und aus diesem Grunde schon sicher kein Fett, so sehr auch ihr frisches Aussehen dafür sprechen mag. Mit Eisenhämatoxylin färben sie sich tief und homogen schwarz. Die Form ist meist vollkommen sphärisch, wie es ihrem Aggregatzustand entspricht, doch kommen, vor allem bei größeren Ansammlungen, abweichende Gestalten vor (Fig. 10 u. 28). Eine häufige Erscheinung ist übrigens die, daß sich die Tropfen scheinbar in zwei Abteilungen gliedern, so daß der schwarze Anteil mehr oder weniger halbmondförmig wird, wobei in dem Ausschnitt ein Tröpfchen einer helleren Substanz linsenartig eingebettet erscheint. Am besten ist dieses Verhalten in Fig. 18 rechts unten zu erkennen. Die Größe der Tropfen schwankt beträchtlich.

Die Kerne, soweit sie in diesen Zuständen hell genug sind, um ihren Bau analysieren zu können, sind kugelrund, eine Membran ist, wenigstens am gefärbten Schnitt, nicht mit voller Schärfe nachzuweisen (daß sie vorhanden, beweisen die beiden großen Kerne des Pansporoblasten in Fig. 19), die Masse des Kernes erscheint gleichmäßig homogen grau und enthält ein bis zwei runde oder linsenförmig plattgedrückte, intensiv gefärbte Binnenkörper, die wahrscheinlich immer ganz oberflächlich, der mutmaßlichen Membran dicht anliegen.

Ein deutliches Größerwerden der Kerne bei sonst ziemlich gleichbleibender Beschaffenheit tritt in jenen Bezirken der älteren Individuen ein, welche sich als Pansporoblasten vom übrigen Plasma abgrenzen und durch ihre hellere Grundfärbung (wohl in erster Linie bedingt durch den vollständigen Mangel an Tropfeneinschlüssen) auffallen. Im rechten Bereich der Fig. 23 ist ein derartiges frühes, jedoch schon mehrkerniges Stadium eines Pansporoblasten dargestellt, noch deutlicher und auffallender erscheint aber der Größenunterschied der Kerne, wenn man die Fig. 19 u. 22 in Augenschein nimmt, in denen ich wohl ganz jugendliche zwei- resp. einkernige Stadien der

Pansporoblasten erblicken darf. Der ganze Kern sowohl, als auch die Binnenkörper erscheinen bedeutend größer als die gewöhnlichen Kerne, in Fig. 19 übrigens auch eine schwach färbbare und scheinbar durch Chromatinanlagerung stellenweise verdickte Membran.

In bezug auf die Entwicklung der Pansporoblasten zu Sporoblasten und endlich zu Sporen kann ich mich in wesentlichen Doflein's[1]) Darstellung anschließen. In den wenigen Fällen, wo ich mir auf Grund der Schnitte ein sicheres Urteil erlauben konnte, fand ich in den ausgebildeten Pansporoblasten 12 Kerne, in den eben getrennten, doch noch von jeder Differenzierung freien Sporoblasten je 7 Kerne. Doch muß ich die Möglichkeit zugeben, daß Doflein's Beobachtungen auch hier zutreffen könnten, wonach die Kernteilungen nicht ganz zu denselben Zeiten ablaufen und demgemäß Pansporoblasten mit schon 14 und Sporoblasten mit noch 6 Kernen vorkommen. In Fig. 14 ist genau in der Mitte ein Sporoblast enthalten, der 7 Kerne zählen ließ (auf der Photographie nicht alle gleichzeitig einstellbar), der darunter liegende Schwestersporobast, der nur zum geringsten Teil auf der Figur erscheint, enthielt dieselbe Kernzahl. Die beiden in Fig. 15 u. 16 dargestellten Sporoblasten, die freilich schon ihre Differenzierung begonnen haben, lassen nur mehr je 6 Kerne erkennen. Fig. 17 zeigt oben einen Pansporoblasten, in welchem soeben eine senkrechte Scheidewand die Trennung in zwei Hälften einleitet.

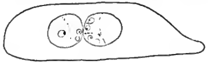
Infolge der ungemein dicht gedrängten Lage der Gebilde in den Schnitten, habe ich mir niemals eine Entscheidung zugetraut bezüglich solcher Erscheinungen, welche auf eine Ausstoßung der Reduktionskerne hinweisen. Eine wiederholte Beobachtung in dieser Hinsicht will ich aber hier erwähnen. Ich sah oft, daß bei nicht fertigen Sporen entsprechend einer noch nicht von Schale eingenommenen Wandstelle kernähnliche Gebilde lagen, die vielleicht den Reduktionskernen entsprechen. Sie waren meist homogen und schwächer färbbar als die normalen Kerne, auch von abweichender Gestalt, aber einer anderen Deutung als der angeführten schwer zugänglich. In Fig. 29 ist unten an der linken, offenbar unfertigen Spore ein solcher Körper zu sehen, der gerade in einer Lücke der Kapsel liegt.

Die Differenzierung der Spore leitet sich damit ein, daß zwischen den vier Kernen der künftigen Polkapselzellen und den zweien des Amöboidkeimes ein Größenunterschied auftritt, der den Eindruck macht, als würden sich die vier erstgenannten wirklich verkleinern.

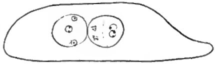
[1]) loc. cit.

Dies wird durch die Fig. 15 u. 16 illustriert. Zum besseren Verständnis der beiden Bilder, die durch Einstellung auf verschiedene Höhen eines und desselben Schnittes gewonnen sind, habe ich die nebenstehende Pause angefertigt, die die Details beider Aufnahmen, soweit sie sich auf die Kerne der Sporoblasten beziehen, enthält.

Zu Fig. 15.



Zu Fig. 16.



Vor allem der rechte Sporoblast ist der Beobachtung günstig. Wir sehen in der rechten Hälfte desselben, dicht aneinander gelagert, die zwei Amöboidkeimkerne, den oberen mit einem, den unteren mit zwei Binnenkörpern. Die linke Hälfte entspricht der Kapselregion, drei von den Kernen sind deutlich zu unterscheiden, von dem untersten ist nur eine Art von Schatten sichtbar. Die geringere Größe der Kerne ist ersichtlich. Die gleichen Verhältnisse, nur weniger deutlich, herrschen im linken Sporoblasten, wobei ich auf die Übereinstimmung meiner Figur mit der Zeichnung von Doflein (Fig. 75) hinweisen will, in der man sieht, daß die Kapselhälften der künftigen Sporen einander zugekehrt wird, während die Amöboidkeimhälften distal voneinander liegen.

Interessant ist, besonders deutlich im rechten Sporoblasten meiner Figur, das Vorkommen von Häufchen stärker färbbarer, fädiger oder fein granulärer Elemente, die ich auch in der Pause angeführt habe und die ich in einen Zusammenhang mit der Bildung der Polkapselsubstanz bringen möchte. Ihr Vorkommen beschränkt sich auf den Polkapselanteil des Sporoblasten.

In Fig. 21 sehen wir bereits, daß die Sporoblasten die sphärische Gestalt der Spore angenommen haben, die Schnittführung ist jedoch eine solche, daß man nur rechts die Kerne des Amöboidkeimes wahrnehmen kann. Wie aus dem Vergleich der auf die Entwicklung des Pansporoblasten bezüglichen Bilder hervorgeht, erfährt derselbe eine beträchtliche Größenzunahme, vor allem wenn man die Massen der schließlich resultierenden Sporen in Betracht zieht.

Daß der Pansporoblast eine besondere Hülle habe, die ihn vom übrigen Plasma scheidet, ist nicht zu bemerken. Oft aber sieht man, daß die freiwerdenden Sporen von einem mehr oder weniger dicken Plasmamantel eingeschlossen sind, meist zu zweien, ihrer Genese entsprechend. In Fig. 26 ist aus einem solchen Plasmasack die eine Spore bereits herausgefallen. Die Herkunft dieser Umhüllung ist einfach so zu erklären, daß, wie dies ja auch von manchen anderen Neosporidien bekannt geworden ist, im großen und ganzen die Sporenbildung mit einer Erschöpfung des Individuums einhergeht und das Ende des vegetativen Lebens bedeutet. Schon Fig. 21, aber auch Fig. 17, 20, 25, 27 und 28 zeigen uns Exemplare, die keinen vollkräftigen Eindruck mehr machen, vor allem die Menge der Tropfeneinschlüsse bestärkt diese Ansicht. Es scheint, als ob das Plasma und auch die Kerne dabei schrumpfen und resorbiert würden, so daß wir dann die reifen Sporen nur mehr mit einer mehr oder weniger tröpfchenreichen Masse umgeben finden (Fig. 26, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38).

Von den Sporen der anderen bisher bekannten *Chloromyxum*-Arten unterscheiden sich die unsrigen durch ihre fast vollkommen sphärische Gestalt. Höchst auffallend sind gewisse, sehr konstante Größenunterschiede, die zwei diesbezüglich scharf getrennte Sporensorten von sonst identischem Bau unterscheiden lassen. Die auf die Sporen bezüglichen Fig. 23—40 sind mit Ausnahme von Fig. 37 sämtlich bei gleicher Vergrößerung aufgenommen. Die Größenunterschiede ergeben sich bei der Betrachtung von selbst.

Die ungefähren Maße der kleinen Sorte sind:

10 μ Durchmesser, 4 μ Länge der Polkapseln,
die der großen 13 μ „ 6 μ „ „ „

Die Skulptur der beiden Schalenhälften ist eine sehr zierliche. Sie wird gebildet von schmalen erhabenen Leisten, welche vom Kapselpole schleifenartig über die betreffende Hälfte ziehen und ein ähnlich exzentrisches System von Kurven bilden, wie es die Abbildung von *Chloromyxum leydigi* bei Thélohan aufweist. Nur stehen die Leisten viel dichter und ihre Verlaufsart ist entsprechend der Kugelform eine andere (Fig. 34 u. 35). Doch kommen zahlreiche Unregelmäßigkeiten des Leistenverlaufes vor, von einfachen spitzwinkligen Verzweigungen oder Vereinigungen (Fig. 35) bis zu ganz unregelmäßiger Anordnung (Fig. 38). Werden die Leisten quer durchschnitten, so erscheinen sie wie die Zähne eines Zahnrades (Fig. 25, 29—32). Die Wand der Kapsel läßt sich in zwei Schichten auflösen, die man besonders deutlich sieht, wenn sie sich ein wenig

voneinander abgehoben haben, z. B. in Fig. 31 links unten. Die äußere wird gebildet von den erhabenen Leisten, die wahrscheinlich basal durch ein sehr feines Häutchen verbunden sind; die innere ist ganz glatt. Die Doppelschichtigkeit der Schale ist übrigens am frischen Objekt vorzüglich wahrnehmbar. Die Naht, in welcher die beiden Schalenhälften zusammenstoßen, läßt meistens eine dunklere Färbung erkennen (Fig. 34 u. 35).

Der Amöboidkeim hat die von den Sporen anderer Myxosporidien her bekannte Halbkugel- oder Brotlaibform, seichte Konkavitäten bezeichnen die Berührungsstelle mit dem Plasma der Polkapseln, so daß in die Mitte zwischen die vier Polkapseln ein kleiner Hügel des Plasmas hineinragt (Fig. 24, 26, 27). Eine sichere Lagebeziehung der Kerne zu der Nahtebene konnte nicht festgestellt werden.

Das Plasma der Polkapselzellen ist meist so dunkel gefärbt, daß man den darin befindlichen Kern optisch nicht ganz isolieren kann, und die äußere und untere Peripherie der Kapsel von einer einheitlichen sichel- oder besser napfförmigen Masse umschlossen erscheint, an deren dickster Stelle als etwas dunklerer Fleck der Kern erkannt werden mag (Fig. 24, 29, 37). Den Querschnitt durch die Polkapselhälfte einer Spore, allerdings sind nur zwei Kapseln mit den dazu gehörigen Kernen scharf eingestellt, zeigt Fig. 36.

Die Kapseln selbst haben die bekannte Birnform und lassen unter günstigen Umständen einige Strukturdetails erkennen. Ihre Wand ist deutlich doppelschichtig, vom spitzen Pol aus sehen wir den Polfaden ins Innere verlaufen, freilich gelang mir seine Verfolgung nicht sehr weit. Daß er mehrmals spiralig aufgewickelt sein sollte, ist mir recht unwahrscheinlich, er mag im Gegenteil ziemlich kurz sein (Fig. 33). Eine Explosion einer frischen Spore durch Reagentien hervorzurufen ist mir nicht gelungen. Die Kapseln münden in je eine von vier feinen Öffnungen, welche dicht beisammen im Quadrat oder in kurzem Rechteck am oberen Sporenpole stehen (Fig. 39 und 40). Ist die Anordnung eine rechteckige, so liegt die Nahtebene der Spore senkrecht gegen die längere Seite des Rechteckes. Die Fig. 38 zeigt die Schrägansicht einer Spore mit zwei derartigen Polporen, der parallel zu deren Verbindungslinie verlaufenden Naht und zwei Polkapseln, deren Poren aber wegen der Schräglage nicht gleichzeitig eingestellt werden konnten. Die Poren entsprechen kaminartigen Durchbrechungen der an diesem Pole ein wenig verdickten Sporenschale (Fig. 30). An einer noch nicht ganz ausdifferenzierten Spore in Fig. 37 sieht man ganz deutlich über

dem spitzen Ende der beiden Kapseln je eine knrze Röhre kaminartig die Schale durchsetzen.

Es ist begreiflich, daß man nur auf dicken Längsschnitten und in Totopräparaten durch Wechseln der Einstellung sämtliche Polkapseln wahrnehmen kann, höchstens ein Querschnitt zeigt alle vier gleichzeitig (Fig. 36), sonst sieht man gewöhnlich bloß zwei derselben (Fig. 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 37), nnter besonders glücklichen Umständen auch drei (Fig. 28, bei den seitlichen Kapseln dieser Figur auch die Kerne), gelegentlich auch bloß eine (Fig. 33, wo übrigens eine zweite herausgefallen zn sein scheint).

Es ist begreiflich, daß ich an meinem spärlichen Material keine Beobachtungen über das Schicksal der Amöboidkeime machen konnte. Ich versuchte zwar Nierenstücke des zweiten *Proteus*-Exemplares an einige andere Tiere, Olme sowohl, wie ältere Salamanderlarven und Tritonen zn verfüttern, ich machte sogar einmal den abentenerlichen Versuch. parasitenhaltiges Material direkt in die Bauchhöhle einzubringen, alles ohne Erfolg. Ich bin daher bezüglich der weiteren Entwicklung von der reifen Spore an vorläufig ohne Kenntnis und mnß günstigere Zeiten abwarten, die mir wieder entsprechendes Material bringen. Was ich über die Entwicklnng an meinen Schnitten wahrnahm, ist übrigens für das Genus *Chloromyxum* neu nnd enthält einige interessante Details.

Ich fand ausgesprochene Jngendstadien anfangs regelmäßig nnr in den Zellen der flimmernden Anfangsteile der Nierenkanälchen, also in den Nephrostomial- und den Nebenkanälchen im Sinne der Nomenklatnr von Felix.

Ich muß aber diesen Befnnd, den ich auch in meiner vorläufigen Mitteilung angab, insofern richtig stellen, als ich, obgleich ungemein selten, anch in den Bürstenzellen intracellnläre Parasiten fand. Die flimmernden Abschnitte der Amphibienniere sind bekanntlich znsammengesetzt aus kubischen oder niedrig cylindrischen Zellen, die im Zentrum ihrer freien Fläche eine dichtstehende Gruppe von diplosomenartigen Basalkörpern besitzen, von denen ein überaus langer nnd kräftiger, zu einer Art von Riesengeißel verklebter Wimperschopf ins Innere ragt und gegen den Ureter hin schlägt. Diese Gebilde sind in den bezüglichen Fig. 2, 4, 5, 6 nnd 7 dargestellt, in denen man sich anch über die normale Beschaffenheit der zugehörigen Kerne unterrichten kann. Diese Kanälchenabschnitte erscheinen nnn an manchen Stellen in außerordentlicher Weise dilatiert nnd gleichzeitig teilweise obturiert durch große plasmatische Massen, in denen die jungen Parasiten, meist in Mehrzahl eingebettet liegen.

Diese Plasmakörper sind nichts weiter als ehemalige Zellen des Wimperepithels nnd hängen oft noch deutlich mit dem Epithel znsammen oder liegen, wenn der Prozeß noch nicht weit fortgeschritten ist, überhaupt noch im Bereich des Epithels, das an dieser Stelle nur emporgewölbt ist. Dies letztere ist beispielsweise der Fall in Fig. 6, wo die rechte Wand des Kanälchenlängsschnittes eine solche Stelle aufweist. Wenn diese parasitenhaltigen Zellen manchmal mit zwei Wandstellen in Verbindnng zu sein scheinen, wie in Fig. 2 und 7 links, so ist das nur auf die Schnittführung zurückführen. Fig. 2 ist entschieden ein Flachschnitt, Fig. 7 betrifft eine Zelle, die noch in breiter Verbindung mit der Wand steht, wobei nur zwei periphere Stellen ihrer Haftfläche getroffen sind, so daß ein plasmatischer Strang scheinbar einen Teil des Lumens überbrückt, den nach links hin noch drei unveränderte Zellen (an der mittleren anch die Basalkörpergruppe und der Wimperschopf erkennbar) begrenzen.

Es ist anffallend, daß es oft auf weite Strecken nur eine einzige Zelle ist, die von den Parasiten befallen erscheint, während die Nachbarn verschont sind (Fig. 4 und 6). Die Vergrößernng der Zellen in der Richtnng parallel der Oberfläche wird wohl die nächste Ursache für die Vergrößerung des Kanälchenlumens sein (Fig. 7). Die Veränderungen, welche die befallenen Zellen erleiden, sind eigentümlich genug, sie können jenen an die Seite gestellt werden, die dnrch *Nosema lophii* in den Ganglienzellen der *Lophius piscatorius* hervorgerufen werden. Sie sind einzig auf Hypertrophie beschränkt, eine Wucherung der Zellen ist in unserem Falle schon anf Grund der Teilnngsunfähigkeit von Flimmerzellen ausgeschlossen. Neben der evidenten Znnahme des Zellvolums ist es der Kern, der sich stark vergrößert, sein Kerngerüst verliert und meist nur noch einige größere runde färbbare Klumpen behält, wodurch er ein blasseres Aussehen gewinnt (Fig. 2, 4 und 6). Dabei bleibt er nicht rund, sondern ist meist an der Peripherie mehrfach und tief konkav eingebnchtet, eine Erscheinung, die offenknndig durch das Wachstum der Parasiten veranlaßt wird, die einen Druck auf den Kern ausüben.

Die Parasiten selbst finden sich auf sehr verschiedenen Stadien vor. Ob einkernige Individuen, wie sie Doflein bei anderen Arten (Myxoboliden) gesehen hat, vorkommen, kann ich nicht sagen, dazu ist mir die alleinige Betrachtung von dünnen Schnitten doch nicht verläßlich genug. Der vereinzelte *Chloromyxum*-Kern in Fig. 4 links in der Mitte der Höhe, zwischen den beiden normalen Flimmerzellkernen ist mir nicht beweisend. In Fig. 5 sieht man links je einen kleinen Plasmakörper mit 2, resp. 3 Kernen. Ferner sieht man, am

schönsten in Fig. 4, Parasiten mit einer größeren aber immer noch mäßigen Kernzahl, endlich, wie in Fig. 5, 6 und 7 solche mit zahlreicheren Kernen, die sehr klein, stark färbbar und dichtgedrängt stehen, und sehr an die oben erwähnten kleinsten freien Stadien erinnern (Fig. 9). Bemerkt mag werden, daß namentlich drei von den vier größeren Parasiten der Fig. 5 sowohl kleine dunkle, als größere lichte Kerne aufweisen. Vermutlich sind die kleinen durch Teilung aus den großen entstanden, denn schließlich sind nur solche von ersterer Art zu sehen (Fig. 6 und 7).

Wenn, was nach dem Bilde der Fig. 4 unvermeidlich erscheint, die affizierte Zelle aus dem Epithelverbande gänzlich herausfällt und sich auflöst, werden die Parasiten frei und gelangen nun, wohl meist passiv, in die Bürstenkanälchen, womit wir an jenen Moment anschließen, mit dem wir unsere Schilderung begonnen haben.

Daß die parasitenhaltigen Zellen wirklich veränderte Flimmerzellen sind, beweist Fig. 4, wo wir unmittelbar rechts neben dem Kerne der infizierten Zelle noch deren Basalkörpergruppe, freilich ein wenig in Unordnung geraten, mit voller Sicherheit diagnostizieren können.

Wiederholt fand ich in den hypertrophischen Zellen Einschlüsse, die ganz das Aussehen von Bakterien haben und sich mit Eisenhämatoxylin intensiv färbten (Fig. 2 und 6). Ihre Bedeutung ist mir unklar geblieben.

Daß, wie oben erwähnt, auch Infektion der Bürstenzellen vorkommt, beweisen die Fig. 11, 12 und 13. In Fig. 11 sehen wir eine solche Zelle erfüllt mit einigen sehr jugendlichen Stadien und bereits die charakteristische Kernveränderung aufweisend. Wir bemerken weiter, wie von rechts und links tiefe Einschnitte diese Zelle von ihren Nachbarn trennen, sicher ein Zeichen der bevorstehenden Ausstoßung aus dem Epithelverbande. In Fig. 12 und 13 sind zwei nahe aufeinanderfolgende Schnitte eines frei in einem Kanälchenlumen vorgefundenen Körpers aufgenommen, der eine Anzahl verschieden weit entwickelter *Chloromyxum* enthält. Betrachtet man die Peripherie dieses Körpers, so bemerkt man daselbst einen schmalen Saum von jenen eigentümlichen fädigen Strukturen, die als Heidenhain'sche Stäbchen bezeichnet und in der Proteusniere in vollendeter Schönheit dargestellt werden können. (Fig. 9 zeigt dieselben in den sichtbaren Teilen der Nierenzellen gleichfalls.) In Fig. 12 ist sogar noch der veränderte Kern erhalten. Es ist also hier eine Bürstenzelle offenbar schon ausgestoßen worden.

Frägt man sich nach dem Infektionsmodus, so ist es nach den

Befunden an anderen Myxosporidien und den lokalen physiologischen Verhältnissen in der Niere am wenigsten wahrscheinlich, daß ein befallenes Tier mit den in ihm entstandenen Sporen sich selbst von neuem infiziert, das Naheliegendste ist doch sicher die Annahme einer Übertragung auf ein anderes Individuum auf dem Wege des Wassers. Der Umstand, daß die jüngsten Infektionsstadien sich meist in den Harnkanälchenabschnitten fanden, die unmittelbar mit dem Cölom in Verbindung stehen, ließ die Vermutung in mir aufkommen, ob nicht dies der Weg ist, den die Keime, die Darmwand durchsetzend, nehmen und veranlaßte meine Fütterungs- und peritonealen Infektionsversuche. Betreffend die geschlechtlichen Vorgänge, die zu erforschen mein Hauptwunsch gewesen war, kann ich leider nicht über jene Vermutungen hinausgehen, die Doflein in seiner Myxosporidienarbeit ausgesprochen hat. Ich erkenne deren Berechtigung vollkommen an, halte aber Überraschungen nicht für ausgeschlossen.

Jedenfalls muß ich es als eine Schwierigkeit der weiteren Erforschung und als auffallende Erscheinung bezeichnen, daß ich in einem und demselben Wirtsindividuum die verschiedensten Stadien der Entwicklung vorfand, was entweder eine ungleichzeitige Entwicklung der Parasiten, oder eine wiederholte Infektion, oder aber, was ja auch nicht absolut ausgeschlossen werden kann, eine Autoinfektion zur Ursache haben kann, alles Vorgänge, über die wir gleich wenig wissen.

Eine kurze Bemerkung möchte ich noch anschließen. Wir haben durch die Untersuchungen Doflein's und anderer sehr schöne und deutliche Bilder von der karyokinetischen Teilung der Myxosporidienkerne kennen gelernt; mir ist es nicht ein einziges Mal gelungen, in meinem zweifellos frisch konservierten Material etwas zu finden, was ich als eine Karyokinese, ja überhaupt als Kernteilung eines *Chloromyxum*-Kernes hätte ansehen können. Es ist dies um so verwunderlicher, als das Material, wie aus seiner histologischen Erhaltung hervorgeht, wirklich ausgezeichnet und zwar wenige Minuten nach dem Töten des Olmes konserviert war, das Nierengewebe von Karyokinesen geradezu wimmelte und die Parasiten sich ganz bestimmt in regster Entwicklung befanden.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind Photographieen nach Schnitten, die mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin gefärbt waren, Fig. 6 nach einem Paraffinschnitt, alle übrigen nach Celloidinschnitten. Es wurde die Horizontal-Vertikalkamera von Zeiss benutzt,

Vergrößerungen: Fig. 1. Zeiss Projektionsokular 2, Apochr. Obj. 4 mm.
Fig. 37. Zeiss Comp.-Okular 4, Apochr.-Obj. hom. Imm. 2 mm. Ap. 1,40 ganzer Balganszug (ca. 2000 ×).
Alle übrigen Figuren: Zeiss Proj.-Okular 2, Apochr. Obj. hom. Imm. 2 mm, Ap. 140, ganzer Balgauszug (ca. 1000 ×).

Tafel XVI.

Fig. 1. Längsschnitt durch ein Bürstenkanälchen der Proteusniere, das von den Parasiten fast vollständig ausgefüllt ist.

Fig. 2. Schiefschnitt durch einen Flimmerkanal. In das Lumen ragt, dasselbe fast ganz verlegend, eine Zelle mit vergrößertem, chromatinarmem und deformiertem Kern hinein, deren Plasma von Jugendstadien der Parasiten, sowie von den bakterienartigen Gebilden erfüllt ist.

Fig. 3. Wand eines Bürstenkanälchens mit darauf sitzendem, offenbar jugendlichem und sehr kernreichem Chloromyxum (keine Sporulation), außerdem Anschnitte zweier bereits sporulierender Exemplare.

Fig. 4. Schiefschnitt durch einen Flimmerkanal, ähnlich wie Fig. 2. An der infizierten Zelle rechts neben dem Kern noch der Basalkörperhaufen der Zelle sichtbar.

Fig. 5. Ähnlicher Schnitt, wie der vorhergehende, Kern nur ganz wenig gestreift. Neben sehr jungen Parasiten mit nur wenigen größeren blassen Kernen (namentlich links und unten) vier größere Individuen mit zahlreichen, dichtgedrängten, kleinen und dunkleren Kernen.

Fig. 6. Längsschnitt durch einen Flimmerkanal. In der infizierten Zelle ein sehr deutlich pathologisch veränderter Kern, auch bakterienartige Gebilde.

Fig. 7. Querschnitt durch einen Flimmerkanal. Drei infizierte Zellen mit verschiedenen Jugendstadien des Parasiten, zwischen den drei Zellen sehr deutlich Basalkörpergruppen und Flimmerhaare normaler Zellen.

Fig. 8. Freie, noch nicht sehr alte doch schon sporulierende Parasiten in einem Bürstenkanal.

Tafel XVII.

Fig. 9. Querschnitt durch einen Bürstenkanal mit jüngeren freien Parasiten. Links ein noch sehr junger mit dunklen kleinen Kernen, rechts oben und unten zwei Tiere mit bereits größeren lichteren Kernen und großen Tropfen der gefärbten Substanz.

Fig. 10. Gleichfalls ein junges Chloromyxum mit sehr großen unregelmäßig gestalteten Tropfen der gefärbten Substanz.

Fig. 11. Eine Bürstenzelle mit Jugendstadien des Parasiten. Die Zelle ist bereits fast vollständig von ihren Nachbarn getrennt und sitzt nur noch mit ihrem basalen Teil der Wand an.

Fig. 12 und 13. Zwei aufeinanderfolgende Schnitte (spiegelbildlich zueinander, da der eine Schnitt verkehrt lag). Eine losgelöste Bürstenzelle mit jungen Parasiten. In Fig. 12 der veränderte Kern sichtbar. An der Peripherie der Zelle noch deutliche Strukturelemente der Bürstenzelle erkennbar.

Fig. 14. In der Mitte ein Sporoblast; derselbe ließ beim Einstellungswechsel 7 Kerne zählen. Der darunter liegende Sporoblast nur zum Teil eingestellt.

Fig. 15 und 16. Ein und derselbe Schnitt bei verschiedener Einstellung. Zwei Schwestersporoblasten in beginnender Differenzierung zu Sporen. Verschiedene Größe der Polkapsel- und Amöboidkeimkerne. (Vgl. übrigens die Textfigur.)

Fig. 17. Oben ein Pansporoblast mit beginnender Teilung in Sporoblasten (senkrechtes Septum).

Fig. 18. Einige Tropfen der gefärbten Substanz; rechts unten ein solcher mit Ausschnitt und angelagerten hellen Tröpfchen.

Fig. 19. Ein Pansporoblast im zweikernigen Stadium.

Fig. 20. Ein Pansporoblast mit mindestens 12 Kernen (nicht alle sichtbar).

Fig. 21. Rechts zwei Sporoblasten in Umbildung zu Sporen.

Fig. 22. Ein Pansporoblast im einkernigen Stadium.

Fig. 23. Zwei Parasiten, der obere enthält links eine Spore, der untere gegen rechts einen Pansporoblasten und zahlreiche „Tropfen".

Fig. 24, 25 und 27. Sporen der kleinen Sorte in wahrscheinlich zerfallenden Chloromyxumindividuen, in den verschiedensten Richtungen getroffen.

Fig. 26. Spore der großen Sorte mit plasmatischer Hülle, aus der die Schwesterspore herausgefallen ist. Oben „Tropfen".

Fig. 28. Spore der kleinen Sorte, Längsschnitt, drei Polkapseln sichtbar.

Fig. 29. Links eine unfertige Spore der großen Sorte mit einem eigentümlichen Körper in einer Wandlücke unten, vielleicht ein Reduktionskern, rechts fertige Spore im Längsschnitt.

Fig. 30. Längsschnitt durch eine große Spore, Zusammenhang der Kapseln mit der Wand.

Fig. 31. Große Spore, Wandschichten der Schale voneinander abgehoben.

Fig. 32. Große Spore, Querschnitt durch den Amöboidkeim.

Fig. 33. Große Spore mit deutlicher Zweischichtigkeit einer Polkapsel und Polfaden.

Fig. 34 und 35. Oberflächenbilder der Sporenskulptur.

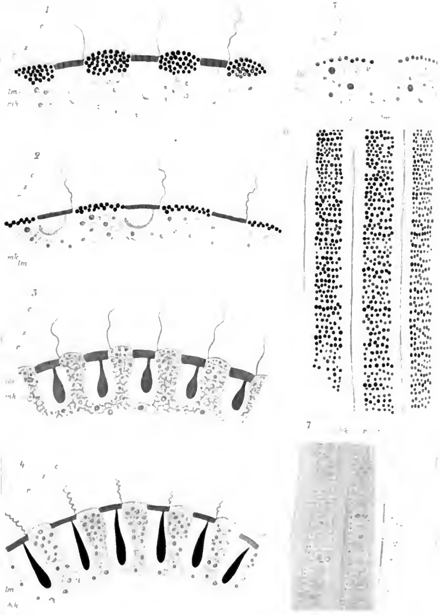
Fig. 36. Querschnitt durch die Kapselregion einer kleinen Spore.

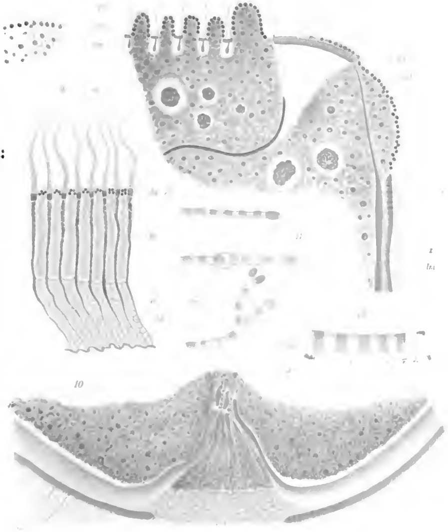
Fig. 37. Längsschnitt durch eine nicht ganz fertige Spore. Kerne des Amöboidkeimes, zwei Polkapseln, kaminartige Öffnungen am Kapselpol.

Fig. 38. Schräge Ansicht einer Spore; sichtbar sind: Zwei Kapselporen, zwei Kapseln und die Naht.

Fig. 39 und 40. Fragmente von Sporenschalen, die 4 Kapselporen zeigend.

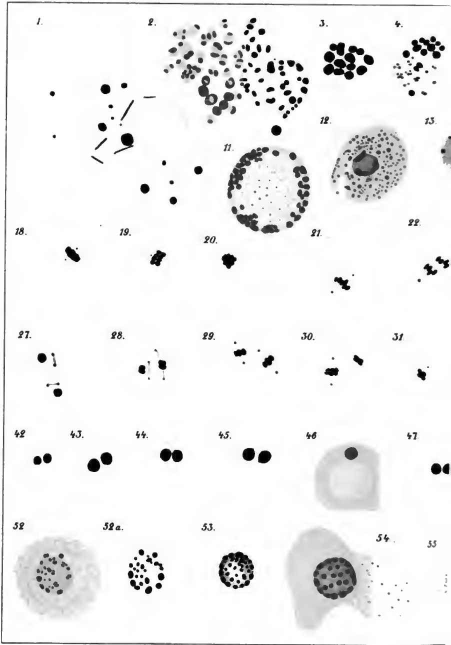
Druck von Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a/S.





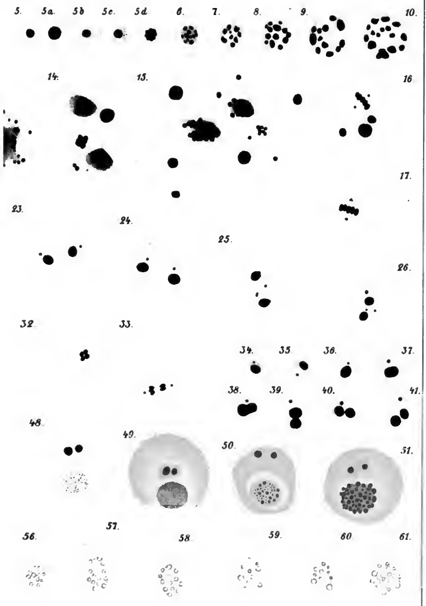


Gustav Fischer



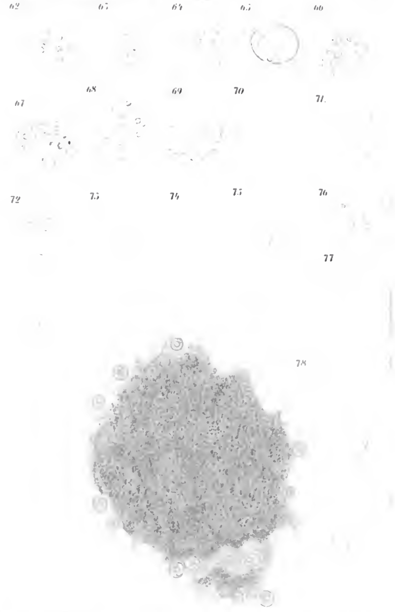
K. Bott gez.

Verlag von Gustav

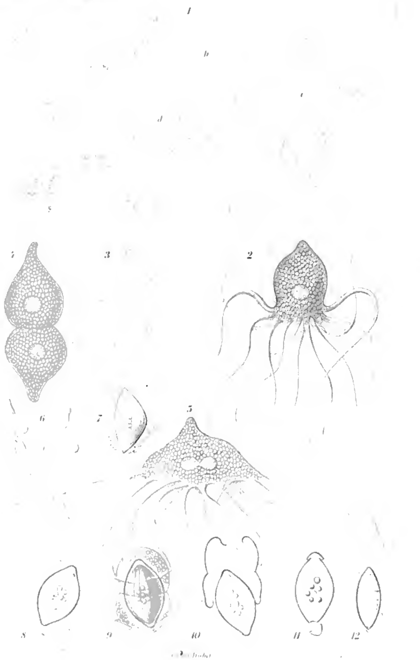


r in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



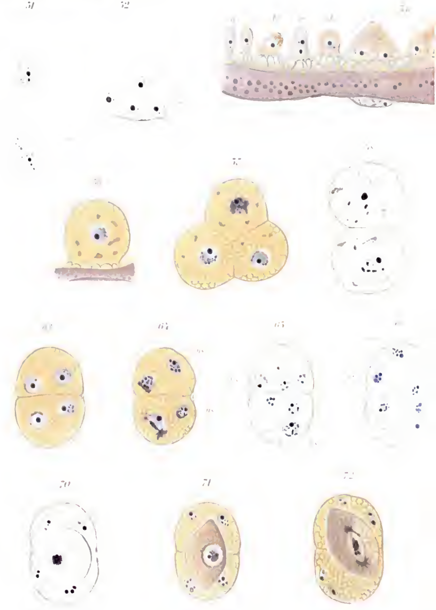
Gustav Fischer



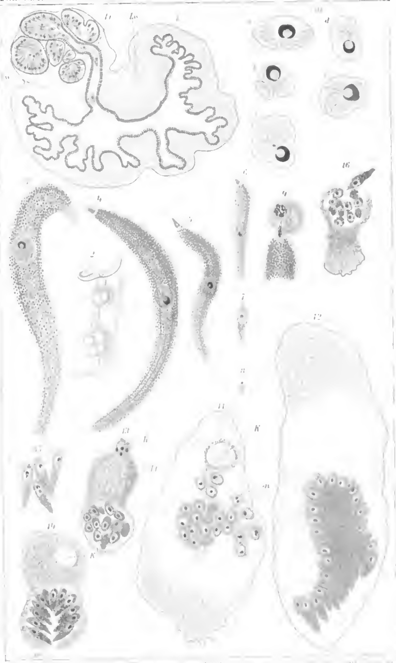

15
16
17
18
19
20
21
22
23
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36



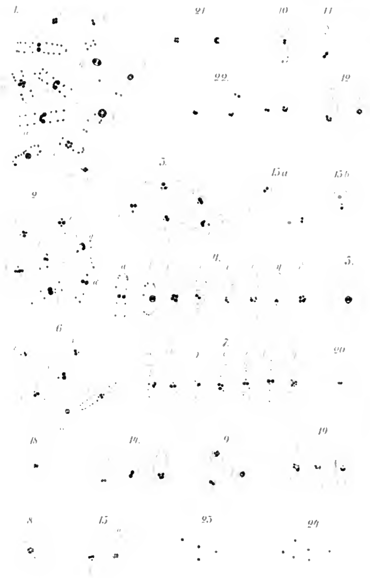



51
52
70
71
72





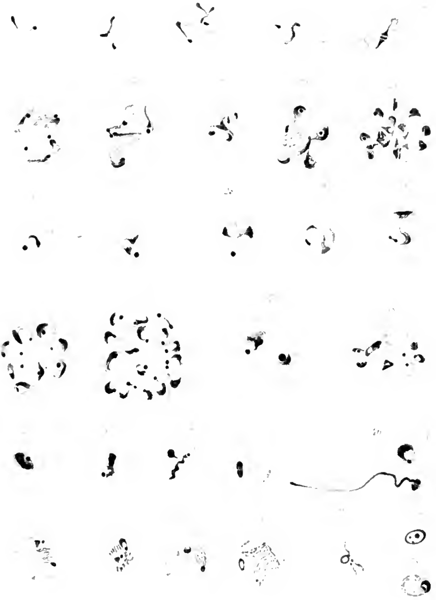
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

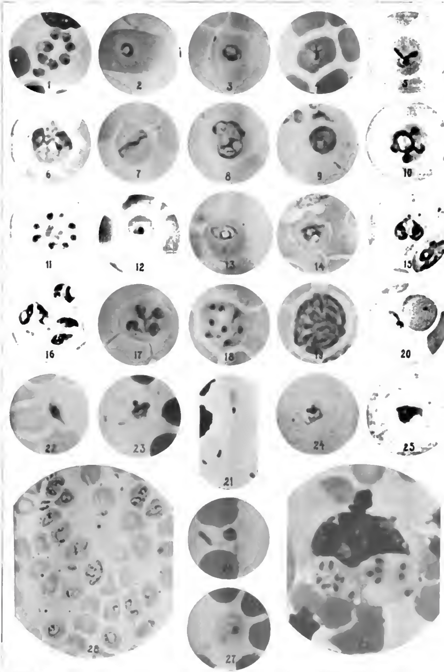



1
2
5
6
7
10
11

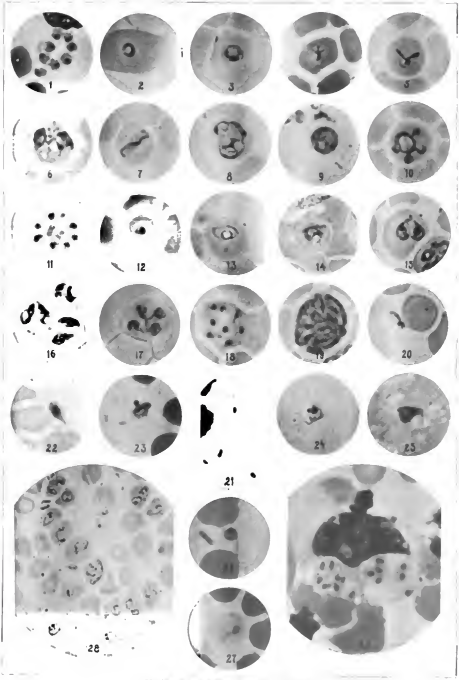

3
4
9
8
13



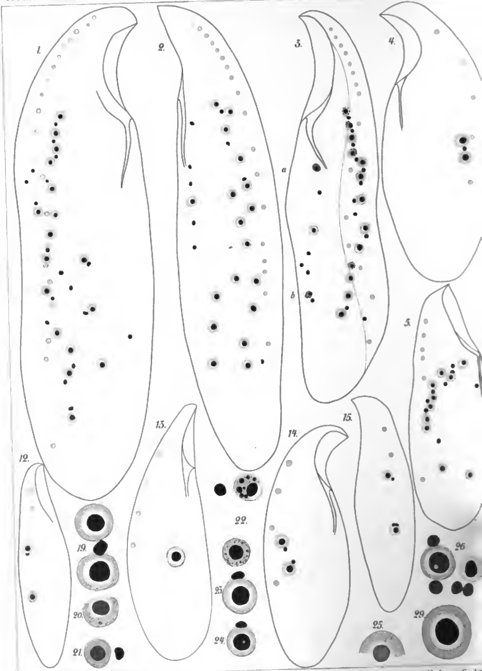




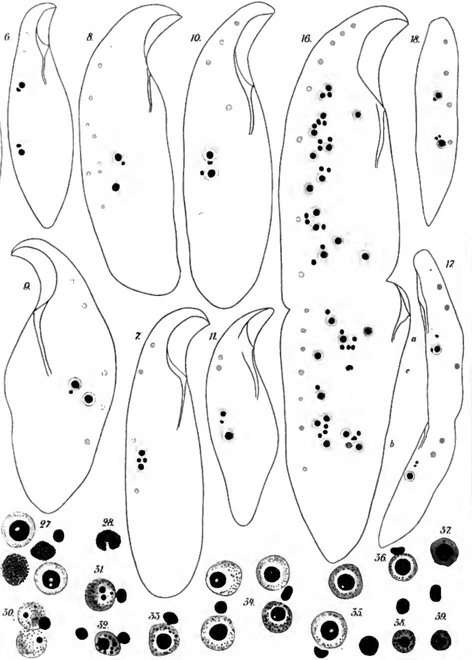
Verlag von Gustav Fischer in Jena.



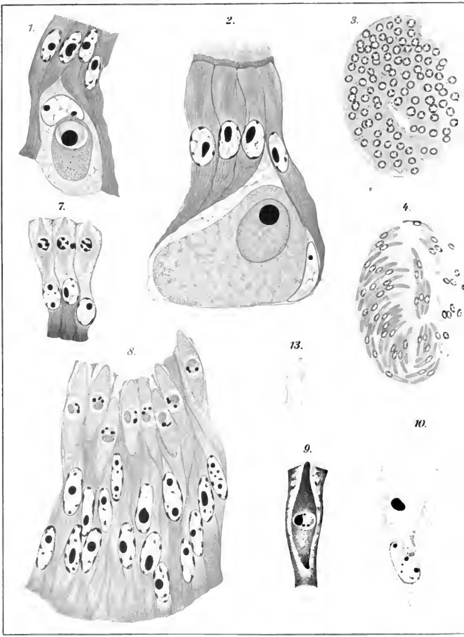
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

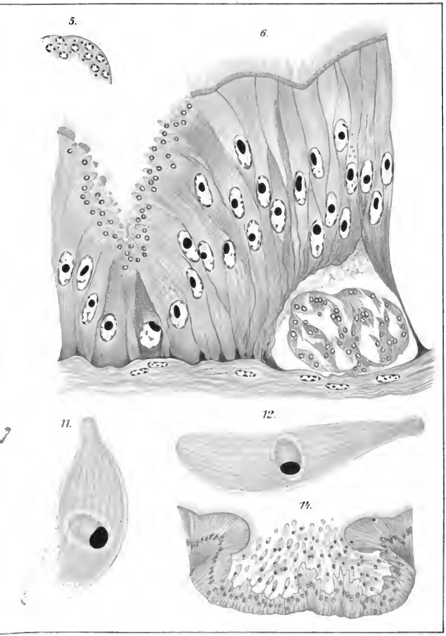


Verlag von Gustav



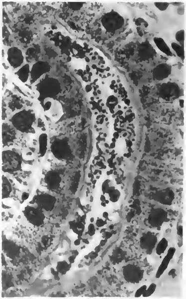
...scher in Jena.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


1.
2.
3.
4.
7.
8.
13.
9.
10.

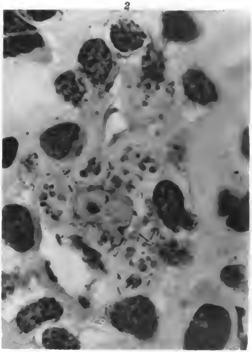


scher, Jena

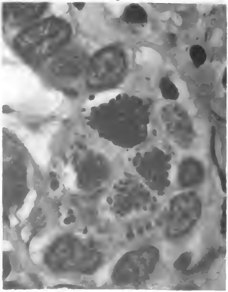
1



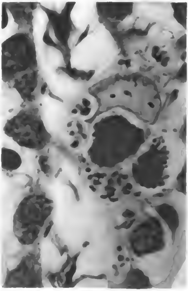
2



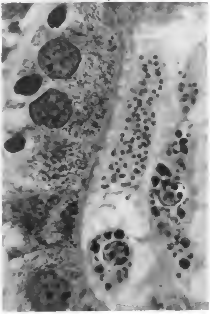
5



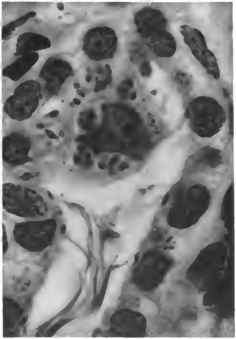
6



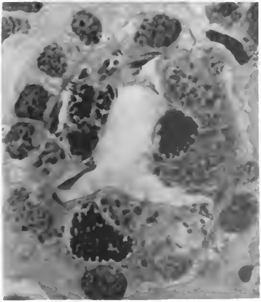
3



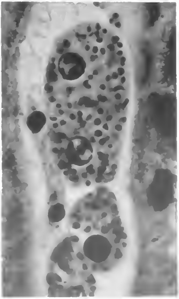
4



7

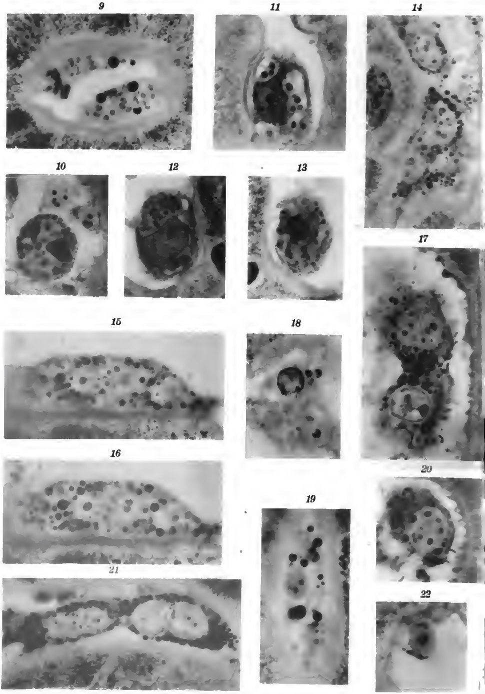


8



Fischer in Jena.

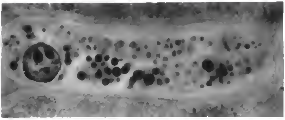
Crayondruck von J. B. Obernetter, München



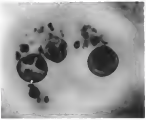
H. Joseph phot.

Verlag von Gustav

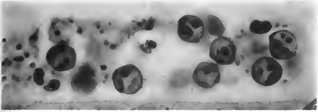
23



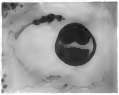
24



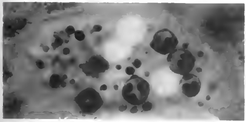
25



26



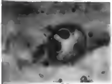
27



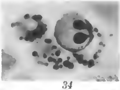
28



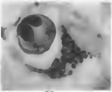
29



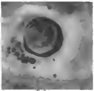
30



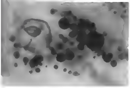
31



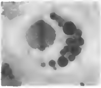
32



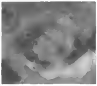
33



34



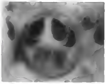
35



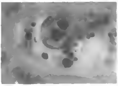
36



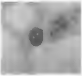
37



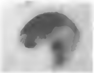
38



39



40



scher in Jena. Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn,

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**

Berlin. z. Z. Java.

Achter Band. Zweites und drittes Heft.

Mit 13 Tafeln und 44 Textfiguren.

JENA.

Verlag von Gustav Fischer.

1907.

Inhalt.

Fritz Schaudinn-Medaille.

Zum Andenken an **Fritz Schaudinn** soll periodisch (voraussichtlich alle zwei Jahre) am Todestage des so früh verstorbenen Forschers eine

Fritz Schaudinn-Medaille für hervorragende Arbeiten auf dem Gebiete der Mikrobiologie

verliehen werden. Die Protozoenkunde und Bakteriologie nicht zu trennen, sondern als Mikrobiologie zusammenzufassen, war stets das Bestreben Schaudinn's. Die Verleihung der Medaille soll durch das Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg, die letzte Wirkungsstätte Schaudinn's, stattfinden. Ein Fonds steht bereits zur Verfügung. Es wird Vorsorge getroffen werden, daß bei der Verleihung der Medaille hervorragende Gelehrte des In- und Auslandes mitwirken.